



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências Humanas e Letras
Departamento de Psicologia
Programa de Pós-Graduação em Neurociência
Cognitiva e Comportamento



Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Visual em Adultos não Fumantes

Thiago Monteiro de Paiva Fernandes

João Pessoa - Paraíba

Dezembro de 2021

THIAGO MONTEIRO DE PAIVA FERNANDES

Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Visual em Adultos não Fumantes

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Prof. Dr. Natanael Antonio dos Santos, como requisito para obtenção do título de doutoramento.

João Pessoa

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F363e Fernandes, Thiago Monteiro de Paiva.

Efeitos da nicotina na sensibilidade ao contraste visual em adultos não fumantes / Thiago Monteiro de Paiva Fernandes. - João Pessoa, 2021.
187 f. : il.

Orientação: Natanael Antonio dos Santos.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCHLA.

1. Nicotina - Efeitos. 2. Processamento visual. 3. Sensibilidade ao contraste. 4. Neuropsicofarmacologia.
I. Santos, Natanael Antonio dos. II. Título.

UFPB/BC

CDU 613.84(043)

Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Visual em Adultos não Fumantes

THIAGO MONTEIRO DE PAIVA FERNANDES

Aprovado em: 29/11/2021

Banca Examinadora

Prof. Dr. Natanael Antonio dos Santos (Orientador)

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Assinatura:

Profa. Dra. Marine Raquel Diniz da Costa (Membro Interno ao programa / PPGNeC)

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Assinatura:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Pimentel (Membro Externo ao programa / PPgPS)

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

Assinatura

Profa. Dra. Aline Mendes Lacerda (Membro Externo)

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura:

Prof. Dr. Tailson Evangelista Mariano

Instituição: Universidade Católica de Pernambuco

Assinatura:

A Deus

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Natanael Santos, meu orientador, pelos ensinamentos e apontamentos para realização dessa pesquisa. Mas, e extremamente importante, pelas inúmeras discussões e debates sobre vida, filosofia, planejamento, teorias e também por sempre incentivar, nunca deixando de lado a individualidade de seus alunos. Agradeço também por acompanhar essa caminhada desde a época de iniciação científica. Agradeço também pelas conversas mais sérias e por ter dado a oportunidade de aprender com sua suavidade, paciência e inteligência emocional que ficaram muito notáveis em diversas ocasiões que pude acompanhar. Agradeço pelo carinho com minha família. Certamente, são qualidades admiráveis. Certo estou de que todo apoio e incentivo que foram fornecidos serão frutíferos em meu desenvolvimento.

Ao Prof. Dr. Flávio Barbosa, que apesar de não ter contribuído diretamente para esse trabalho, foi muito importante nessa caminhada. Agradeço os debates sobre estatística que tivemos muito antes mesmo da Dissertação, e também pelos debates que tivemos em disciplinas. Valorizo, também, a leveza e inteligência emocional em lidar com as mais diversas adversidades.

À Prof. Dra. Suellen Andrade, que apesar de não ter contribuído diretamente neste trabalho, foi fundamental na construção de novos pensamentos e formas de lidar com a pesquisa e com a vida. Agradeço pelas inúmeras discussões metodológicas e pela oportunidade em aprender com sua incrível inteligência e leveza.

Aos membros da banca, por terem lido e contribuído de forma especial nesse trabalho. Agradeço pela participação, comentários e sugestões para melhora. A participação de vocês foi fundamental nessa etapa. Agradeço imensamente.

Aos professores do PPGNeC em que tive o prazer de cursar as disciplinas desde à época do Mestrado. Certo estou de que o corpo docente do PPGNeC é ímpar e tem professores incríveis.

Aos alunos e membros do LPNeC, que foram fundamentais para que este trabalho tivesse êxito. Sem a presença deles, acredito que seria extremamente mais difícil e com menos leveza do que foi. Vocês foram muito mais do que colegas e amigos nessa etapa, então

agradeço também a Gabriella Silva, Manuella Régis, Marcos Vinício, Maria Eduarda, Natalia Almeida, Stephanye Rodrigues e Thiago Bonifácio.

Aos colegas do LPNeC, onde pudemos debater sobre diversas coisas ao longo desse tempo. Agradeço extremamente ao Prof. Dr. Michael Andrade por todo ensinamento que foi desde simples coisas até lições para o desenvolvimento. Agradeço ao Prof. Michael Andrade por ter acolhido a mim (e a muitos outros alunos) desde a época de iniciação científica e ter permitido aprender muito mais sobre e com ele. Sua inteligência, desenvoltura, perspicácia e empatia são qualidades incríveis e raras de ver em conjunto. Agradeço aos demais colegas pelas inúmeras reuniões e inúmeros debates. Ah! E pelo café "de lei" todo final de reunião. Sem contar, claro, os mais divertidos passeios.

Aos colegas de pós-graduação, por tamanho aprendizado em dialogar com pessoas de diferentes formações e perspectivas. Além disso, nada resta além da gratidão por ter feito parte de uma turma memorável no Mestrado e poder encontrar alguns nessa etapa.

Aos participantes, que dispuseram tempo para ir todas as vezes e ajudaram na realização desse trabalho. Agradeço a todos pela leveza e bom humor em topar participar.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento que permitiu a realização da presente pesquisa.

A tu, que estás aqui lendo os agradecimentos.

Aos meus pais, por todo apoio durante essa caminhada. Não foram poucas as vezes em que forneceram sua ajuda e incentivaram cada etapa até chegar aqui. Poderia escrever mais e mais para agradecê-los, mas nunca seria o suficiente. Enorme gratidão por todo o esforço que tiveram para que eu caminhasse, e trilha-se um caminho, mesmo sem eles nunca terem tido a oportunidade. É com esse enorme incentivo e apoio que tento repassar aos meus filhos para que possam fazer tudo com amor.

Aos meus filhos, talvez a maior razão disso tudo, por existirem. E, claro, por darem amor sem pedir nada em troca. Gratidão. Agradeço e espero que possam um dia descansar tranquilamente sabendo que sempre serão guardados, guiados e amados.

“Não faça a sua própria epígrafe, é
minimamente estranho.”

(Thiago Fernandes)

Sumário

Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xiv
Lista de Abreviaturas.....	xv
Resumo	xvi
Abstract.....	xvii
Apresentação	xviii
Capítulo 1: O Processamento da Informação Visual.....	20
Capítulo 2: Neuropsicofarmacologia da Nicotina	39
Capítulo 3: Efeitos da Nicotina no Processamento Visual	55
Capítulo 4: Elementos Estruturadores da Pesquisa	71
Justificativa.....	71
Hipóteses	72
Objetivos.....	74
Capítulo 5: Da Pesquisa.....	77
Método.....	77
Desenho Geral	77
Elegibilidade	80
Randomização	82
Cegamento	83
Segurança e Aderência	83
Intervenção	84
Capítulo 6: Estudo 1	90

Método.....	90
Resultados.....	94
Capítulo 7: Estudo 2	115
Método.....	115
Resultados.....	120
Capítulo 8: Discussão	149
Conclusões.....	164
Referências	167

Lista de Figuras

Fig. 1. Exemplo de Cartelas ou Optotipos para Medida da Acuidade Visual.....	22
Fig. 2. Modelos dos Cartões de Acuidade de Teller.....	23
Fig. 3. Alcance Visual e Sua Relação com os Fotorreceptores.....	25
Fig. 4. Apresentação de um Estímulo em um Fundo Isoluminante.....	28
Fig. 5. Exemplos de Frequências Espaciais.....	29
Fig. 6. Função de Sensibilidade ao Contraste.....	30
Fig. 7. Ordenamento das Cores (Sistema Munsell de Cores).....	32
Fig. 8. Exemplo do Espaço de Cores CIE em Unidades $u'v'$	34
Fig. 9. Estrutura Química da Nicotina.....	40
Fig. 10. Concentração Plasmática da Nicotina.....	42
Fig. 11. Concentração de Nicotina no Encéfalo e Plasma Arterial.....	45
Fig. 12. Domínios de uma Subunidade do Receptor Nicotínico.....	48
Fig. 13. Curvas de Sensibilidade ao Contraste para Controles e Tabagistas.....	59
Fig. 14. Áreas das Elipses para Controles e Tabagistas.....	61
Fig. 15. Fluxograma Geral da Pesquisa.....	79
Fig. 16. Diagrama da Condução e Desenvolvimento da Pesquisa.....	81
Fig. 17. Esquema de Representação das Etapas do Estudo.....	86
Fig. 18. Mensuração da Função de Sensibilidade ao Contraste.....	92
Fig. 19. Boxplots para a Função de Sensibilidade ao Contraste.....	97
Fig. 20. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 0,2 cpd para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	99

Fig. 21. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 1,0 cpg para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	101
Fig. 22. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 3,3 cpg para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	103
Fig. 23. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 5,7 cpg para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	105
Fig. 24. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 8,8 cpg para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	107
Fig. 25. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 130,2 cpg para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	109
Fig. 26. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 15,9 cpg para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	112
Fig. 27. Gráfico da Diferença entre a Sensibilidade ao Contraste (Δ Contraste) Considerando as Doses de Nicotina e as Doses Placebo.....	112
Fig. 28. Diagrama de Realização do Cambridge Colour Test.....	118
Fig. 29. Boxplots para o Eixo de Confusão Protan.....	123
Fig. 30. Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Eixo de Confusão Protan para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	125
Fig. 31. Boxplots para o Eixo de Confusão Deutan.....	126

Fig. 32. Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Eixo de Confusão Deutan para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	128
Fig. 33. Boxplots para o Eixo de Confusão Tritan.....	129
Fig. 34. Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Eixo de Confusão Tritan para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	131
Fig. 35. Boxplots para a Área da Elipse.....	134
Fig. 36. Boxplots para o Comprimento do Eixo Maior da Elipse.....	135
Fig. 37. Boxplots para o Ângulo do Eixo Maior da Elipse.....	136
Fig. 38. Boxplots da Proporção Entre os Eixos da Elipse.....	138
Fig. 39. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Área da Elipse para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	139
Fig. 40. Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Comprimento do Eixo Maior da Elipse para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	140
Fig. 41. Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Ângulo do Eixo Maior da Elipse para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	141
Fig. 42. Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Proporção entre os Eixos da Elipse para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C).....	142
Fig. 43. Comprimento dos Raios para cada um dos Vetores da <i>Ellipse 1</i>	145

Lista de Tabelas

Tabela 1. Influência da Nicotina no Organismo Após Inalação.....	44
Tabela 2. Resumo dos Resultados Obtidos no Estudo de Varghese et al. (2011).....	66
Tabela 3. Resumo dos Resultados Obtidos no Estudo de Naser et al. (2011).....	67
Tabela 4. Resumo dos Resultados Obtidos no Estudo de Fernandes et al. (2020).....	69
Tabela 5. Medidas de Acordo com a Linha de Tempo.....	78
Tabela 6. Características Biossociodemográficas da Amostra.....	95
Tabela 7. Estatísticas Descritivas das Medidas de Sensibilidade ao Contraste.....	96
Tabela 8. Relação dos Efeitos Adversos.....	113
Tabela 9. Eficácia do Cegamento.....	119
Tabela 10. Características Biossociodemográficas da Amostra.....	121
Tabela 11. Estatísticas Descritivas do Subteste <i>Trivector</i> (em 10^{-4} unidades u'v').....	122
Tabela 12. Estatísticas Descritivas dos Parâmetros do Subteste <i>Ellipse</i>	132
Tabela 13. Estatísticas Descritivas Das Medidas de Cada Vetor (em Graus) da <i>Ellipse</i> ...	143
Tabela 14. Relação dos Efeitos Adversos.....	146
Tabela 15. Eficácia do Cegamento.....	147

Lista de Abreviaturas

AV	Acuidade Visual
CCT	<i>Cambridge Colour Test</i>
CIE	<i>Commission Internationale de l'Eclairage</i>
ERG	Eletroretinograma
FM-100	<i>Farnsworth-Munsell 100</i>
FSC	Função de Sensibilidade ao Contraste
GABA	Ácido gama-aminobutírico
MAR	Mínimo Ângulo de Resolução
nAChRs	Receptores Nicotínicos de Acetilcolina (<i>Nicotinic Acetylcholine Receptors</i>)
NGL	Núcleo Geniculado Lateral
ipRGCs	<i>Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
SC	Sensibilidade ao Contraste
SN	Sistema Nervoso
SV	Sistema Visual
V1	Córtex Visual Primário

Fernandes, T. M. P. (2021). **Efeitos da Sensibilidade ao Contraste Visual em Adultos não Fumantes**. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba, Brasil.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos isolados da nicotina na sensibilidade ao contraste visual em não fumantes. Este trabalho foi realizado em duas partes: (1) investigação da sensibilidade ao contraste acromático (grades senoidais verticais com frequências espaciais entre 0,2 e 15,9 ciclos por grau; $n = 13$); e (2) investigação da sensibilidade ao contraste cromático (usando o teste de cores de *Cambridge*, CCT; $n = 21$). Trinta e quatro participantes, com idade entre 18 a 40 anos, foram randomizados e arrolados em dois estudos (participantes diferentes para cada um dos ensaios clínicos controlados) onde houve administração de gomas placebo ou nicotina (2-mg e 4-mg). Análises de variância multivariada para medidas repetidas foram utilizadas para analisar os desfechos de cada estudo. A estatística *Bayesiana* também foi realizada para confirmar os achados e evitar viés. Os resultados indicaram que a dose de nicotina resultou em melhor sensibilidade ao contraste visual quando comparada com placebo ($p < ,001$). Mais especificamente, a dose de 4-mg resultou em uma melhor sensibilidade ao contraste visual quando comparada com as gomas 2-mg ($p < ,01$) e placebo ($p < ,001$), em ambos os estudos. Os resultados mostraram ausência de quebra do cegamento e ausência de diferenças significativas para os efeitos adversos. Ainda, os dados sociodemográficos não tiveram correlação com a sensibilidade ao contraste. Esses resultados preliminares trazem necessidade de pesquisas que possam dar suporte aos achados, principalmente utilizando medidas fisiológicas. Se comprovado, é possível que, em baixas doses, o uso da nicotina possa ter ação farmacológica adjuvante em populações com transtornos, em especial que afetam as funções visuais básicas. Para isso, serão necessárias condições controladas de pesquisa e mais investigações.

Palavras-chave: nicotina; processamento visual; sensibilidade ao contraste; neuropsicofarmacologia.

Fernandes, T. M. P. (2020). **Effects of nicotine on contrast sensitivity in healthy non-smokers**. Thesis (Doctoral), Federal University of Paraiba, Brazil.

Abstract

The main purpose was to investigate the effects of nicotine on contrast sensitivity in non-smokers. This research was conducted into two studies: (1) investigation of achromatic sensitivity (vertical sinusoidal gratings with spatial frequencies ranging from 0.2 to 15.9 cycles per degree; $n = 13$); and (2) investigation of chromatic discrimination (using the Cambridge Colour Test, CCT; $n = 21$). Thirty-four participants, aged 18 to 40 years, were randomized and enrolled in different studies (different participants for each one of the controlled clinical trials) involving administration of placebo or nicotine gum (2-mg and 4-mg). Repeated measures multivariate analyses of variance were conducted to analyze the outcomes of each study. Bayesian statistics were also conducted to confirm the findings and to avoid bias. Results indicated that nicotine gum administration resulted in better visual discrimination when compared to the placebo gum ($p < .001$). More specifically, the 4-mg resulted in better visual sensitivity when compared to the 2-mg ($p < .01$) and the placebo ($p < .001$) gums. Blinding was not broken and no significant differences for adverse events were observed. Sociodemographic data were not related to the visual tests. These preliminary results bring the need to support these findings, specially using physiological measures. If proved, it is possible that nicotine, in small doses, can have adjuvant therapeutic and pharmacological actions for those populations with disorder, especially those affecting basic visual functions. This will require controlled research designs and more investigations.

Keywords: nicotine; visual processing; contrast sensitivity; psychopharmacology.

Apresentação

A presente tese de Doutorado foi estruturada de acordo com as diretrizes regulamentares de dissertações e teses, elaboradas pela Biblioteca Central e seguidas pela Coordenação do Programa de Pós-graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento (PPgNeC) da Universidade Federal da Paraíba, a partir das principais normas do Manual de Publicação da APA (*American Psychological Association*), 7ª edição.

Evidências apontam que o tabagismo pode afetar o processamento visual. Entretanto, o cigarro é composto por vários componentes, o que dificulta especificar qual a contribuição de cada um destes nos prejuízos sensoriais e perceptuais. Neste sentido, é importante estudar os efeitos de cada elemento isoladamente e, em particular, a nicotina, uma vez que: (i) trata-se de um dos principais componentes do cigarro; (ii) seus efeitos isolados em indivíduos não fumantes ainda são pouco conhecidos; (iii) é uma substância que pode ser utilizada como agente neuroprotetivo em transtornos neurodegenerativos como na Doença de *Parkinson*. Além disso, a administração da nicotina tem sido utilizada como importante ferramenta na cessação ao tabagismo. Com isto, o presente trabalho apresenta-se como potencial para compreensão destes aspectos em relação ao processamento visual.

A presente tese aborda o racional teórico, os procedimentos metodológicos, os resultados e a discussão dos dados obtidos. Trata-se de um ensaio clínico duplo-cego randomizado com três períodos onde objetivou-se investigar os efeitos da goma nicotina na sensibilidade ao contraste visual em adultos não fumantes. A partir deste trabalho é possível compreender, ainda que preliminarmente, os efeitos isolados da nicotina em adultos não fumantes e que ainda não foram pré-expostos ao tabagismo. Os resultados

apresentados aqui podem ter alcance além da academia à medida que se procura uma compreensão clínica dos benefícios da nicotina.

Este trabalho encontra-se estruturado em oito capítulos. O Capítulo 1 traz um panorama geral do processamento visual, com ênfase nos aspectos relacionados ao contraste visual cromático e acromático. O Capítulo 2 aborda conceitos básicos e aplicados sobre a neuropsicofarmacologia da nicotina. O Capítulo 3 traça um paralelo entre o processamento visual e a influência da nicotina, trazendo inicialmente as relações existentes entre o tabagismo e, conseqüentemente, os estudos que investigaram apenas efeitos da nicotina. O Capítulo 4 apresenta os elementos estruturadores da pesquisa como justificativa, hipóteses e objetivos. O Capítulo 5 apresenta o desenho geral da pesquisa, e informações com elegibilidade, randomização, alocação, cegamento, tamanho amostral e administração da nicotina. O Capítulo 6 trata do desenho e resultados do Estudo 1, onde foram investigados os efeitos da nicotina na sensibilidade ao contraste acromático. O Capítulo 7 trata do desenho e resultados do Estudo 2, onde foram investigados os efeitos da nicotina na sensibilidade ao contraste cromático. Por fim, o Capítulo 8 traz a discussão na qual estão reunidos os principais aspectos teóricos que consubstanciaram os resultados, as contribuições do presente trabalho, limitações e sugestões para próximos estudos tais como potenciais direcionamentos.

Capítulo 1 – O Processamento da Informação Visual

1. Sensibilidade ao Contraste Visual

1.1 Ótica e a Acuidade Visual

Cerca de 70% a 80% dos estímulos que são processados pelo encéfalo envolvem, em algum grau, processamento das vias visuais (Kniestedt & Stamper, 2003). A informação visual tem início a partir da incidência de luz nos olhos, mais especificamente na retina. Essa talvez seja a forma mais comum de explicar a percepção: por meio da detecção de luz (Kniestedt & Stamper, 2003). Assim, a óptica tem estudado como os olhos podem servir como indicadores do que ocorre no córtex.

Um dos conceitos mais comuns e conhecidos no estudo da percepção visual é a acuidade visual (AV) (Cornsweet, 2012). Por definição, AV é a habilidade de discriminar a menor distância entre dois pontos, separados no espaço, em altos níveis de contraste. O mínimo ângulo de resolução (MAR) é a recíproca do limiar (i.e., menor quantidade de energia necessária para detectar ou distinguir um estímulo) de resolução. Do ponto de vista prático, o nível máximo que a retina humana consegue discriminar corresponde a 20 segundos de arco – justamente a menor diferença entre dois fotorreceptores, ou cones da região central da retina, a fóvea. Outros fotorreceptores, os bastonetes, também podem exercer influência em alguns níveis mais baixos de contraste já que estão mais concentrados na periferia da retina (e.g., luminância de um ambiente ou objeto) (Kniestedt & Stamper, 2003).

A AV também é uma medida extremamente importante, pois caracteriza quão acurada é a detecção dos detalhes que uma pessoa pode ter. Cartelas, optotipos ou escalas podem ser utilizadas para avaliar a AV. Dentre alguns exemplos, essas ferramentas

geralmente empregam o uso de letras, símbolos ou números para que as pessoas possam reconhecê-los ou para que possam indicar a direção da abertura (e.g., os anéis de *Landolt*). Talvez a cartela mais comum seja a de *Snellen*, na qual em pessoas saudáveis o limite de resolução vai de 30 segundos a um minuto de arco (Hetherington, 1954). A cartela de *Snellen* pode ser composta por um “E” com as três “pernas” ou dimensões iguais (Fig. 1a) ou diferentes (Fig. 1b). Os anéis de *Landolt* (ou o “C” de *Landolt*) são estímulos que subtendem cinco minutos de arco (em 60°) para o diâmetro externo e um minuto de arco (em 60°) para o diâmetro interno (Fig. 1c) (Schrauf & Stern, 2001).

A acuidade de *Vernier*, também chamada de hiperacuidade, é uma medida de discriminação do menor desalinhamento espacial (de poucos arcos de segundo) entre duas linhas verticais ou duas grades (Fig. 1d) (Westheimer, 1979). Essas definições mais comuns para a cartela de *Snellen* e o C de *Landolt* podem ser modificadas de acordo com o propósito do pesquisador. Cartelas como as de *Pelli-Robinson* (Elliott & Whitaker, 1992), *Test-Chart 2000* (Thayaparan et al., 2007) e *Sloan* (Sloan, 1959) também são amplamente utilizadas (Fig. 1).

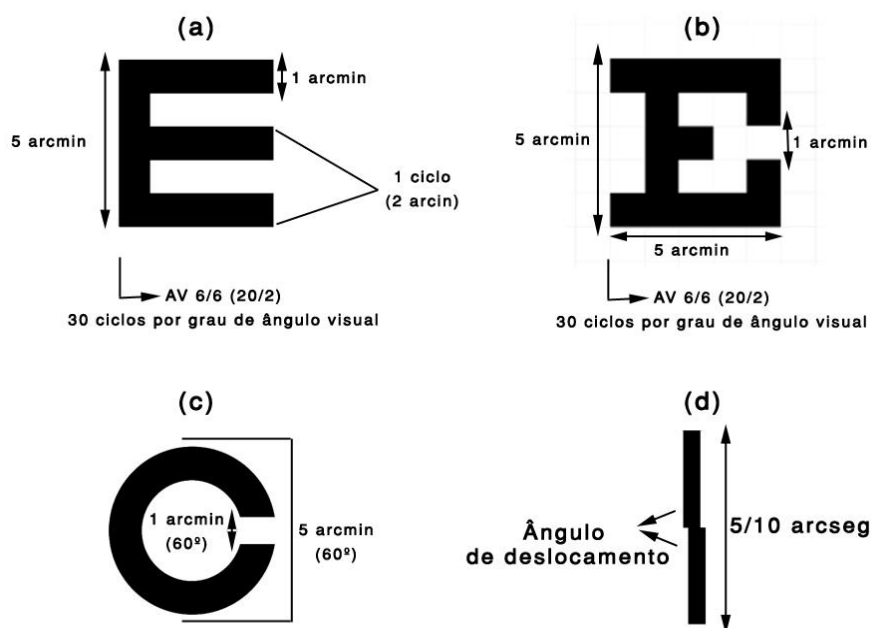
Geralmente, os estímulos para avaliação da AV variam de acordo com a distância em que são apresentados (e.g., 20 pés, ou seis metros). É comum ver acuidades 20/2, onde o denominador (ou a parte após o primeiro 20) representa a menor quantidade ou valor que uma pessoa foi capaz de discriminar corretamente. Apesar da apresentação das cartelas ocorrerem a uma distância de 20 pés do participante, é comum observar também sua apresentação a 80 pés (24 metros) ou 120 pés (36 metros), principalmente em pessoas com visão baixa (i.e., *low vision*) (Kniestedt & Stamper, 2003).

No geral, a definição da AV de uma pessoa depende do tipo de estímulo e do quanto é possível distinguir ou discriminar quanto é possível distinguir ou discriminá-lo.

Por exemplo, a menor abertura entre as duas “pernas” dos Es (Figs. 1a e 1b), a menor abertura entre as extremidades do C (Fig. 1c) ou o desalinhamento entre as duas linhas (Fig. 1d).

Fig. 1

Exemplo de Cartelas ou Optotipos para Medida da Acuidade Visual



Nota: As cartelas, ou optotipos, podem variar como o “E” de *Snellen*, podendo ter dimensões das “pernas” iguais (a) ou diferentes (b), o “C” de *Landolt* (c) e a acuidade de *Vernier* (d).

Tomando como exemplo um optotipo comum (ver Fig. 1a) em que o tamanho das letras vai diminuindo (de cima para baixo) de acordo com cada linha da cartela de optotipos. Por exemplo, se a linha do topo indicasse 20/100 (6/30 ou ,70 logMAR) e esta fosse o limite de leitura de uma pessoa, isso mostraria que essa pessoa leria em 20 pés (ou 6 metros) o que uma pessoa com AV normal ou saudável (20/20 ou 6/6) leria a 100 pés (ou 30 metros) de distância do optotipo. A interpretação da AV varia sempre de acordo com a menor ou melhor linha em que uma pessoa consegue ler. Caso alguém chegue à linha 20/2,

mas erre apenas uma das letras, sua AV será 20/20 - 1, uma vez que é necessário subtrair uma linha para obter o valor de AV caso existam erros na leitura de todas as letras dessa linha.

As cartelas variam em tamanho, começando com um tamanho maior e prosseguindo a variações mínimas (geralmente ,1 unidades logMAR) para cada linha. Outras formas de apresentar os valores de AV usando decimais (1,0) ou em conversões logarítmicas também são comuns por indicar a recíproca do ângulo visual. A AV foi considerada por muito tempo como uma medida de reconhecimento de padrões (Watson & Robson, 1981), entretanto, com a integração de grades, também se pode utilizá-las como medidas de detecção. A acuidade de *Teller* talvez seja o mais comum dos exemplos para demonstrar a integração entre AV e o uso de grades (Fig. 2). Esses cartões foram desenvolvidos para a aplicação em crianças, tendo alto poder de detecção de ambliopia, por exemplo (Drover et al., 2009). No entanto, muito se questiona se a AV envolve padrões de processamento superiores ou apenas o processamento inicial (Kniestedt & Stamper, 2003).

Fig. 2

Modelos dos Cartões de Acuidade de Teller



Nota. Fonte: <https://www.eyesfirst.eu/teller-acuity-cards.html>

Em resumo, a AV também pode ser prejudicada por fatores neurais. No entanto, uma vez que os limites e/ou fatores ópticos correspondem a uma parte fundamental da AV, o tópico de óptica é o melhor espaço para caracterizar a AV. Dentre os inúmeros fatores, a AV pode ser limitada pela ótica e refração do olho, lesões na mácula, nervo ótico, características espaciais e funcionais dos fotorreceptores e quantidade de células ganglionares em comparação aos fotorreceptores.

1.2 Os Fotorreceptores e o Processamento da Informação Visual

A retina, talvez a porção mais fundamental dos olhos, contém cerca de 120 milhões de receptores, sendo a proporção dos bastonetes 20 vezes maior do que a dos cones (Bruce et al., 2003). Para que a informação luminosa seja transformada em informação química, é preciso que ocorram cascatas ou trocas de energias. Isso ocorre por meio de células fotossensíveis: os cones, os bastonetes e as células ganglionares intrinsecamente fotossensíveis (*intrinsically photosensitive retinal ganglion cells* – ipRGCs). Os bastonetes têm uma alta sensibilidade para luz e detectam os níveis mais baixos dos fótons; é por meio dos bastonetes que o sistema visual (SV) consegue processar informação visual sob baixa luminosidade ou penumbra. Os cones apresentam uma baixa sensibilidade à luz (comparados aos bastonetes), porém tem uma alta responsividade aos fotopigmentos, sendo sensíveis a comprimentos de ondas específicos, o que ajuda na visão de cores (Hoon et al., 2014). Em relação aos cones fotossensíveis, acredita-se que em tricromatas saudáveis a proporção entre comprimentos de ondas curtos, médios e longos seja de 1:16:32 (Banks & Shannon, 1993).

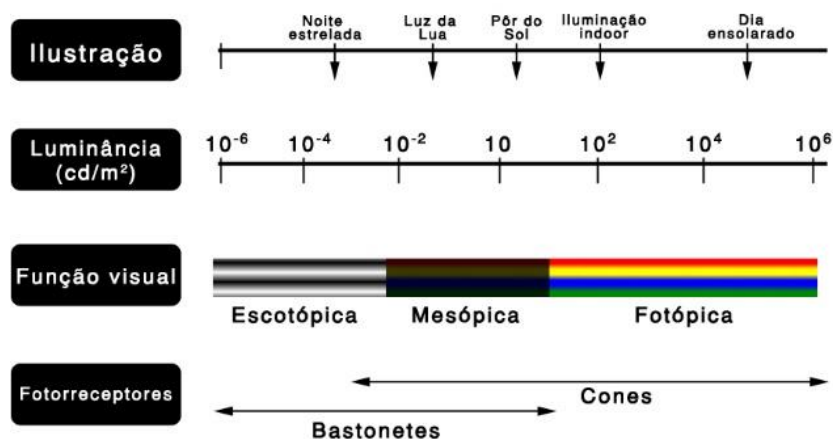
Os fotorreceptores são sensíveis a variações de luz. Por exemplo, a visão noturna (i.e., escotópica; entre 10^{-2} a 10^{-6}) é mais sensível se um determinado estímulo “cair” um pouco ao lado da fóvea, onde existem mais bastonetes. Estímulos projetados na periferia

dos campos visuais serão dificilmente processados pelos bastonetes. Por outro lado, a visão diurna (i.e., fotópica; entre 10^1 a 10^6) ocorre após saturação dos bastonetes e é sensível ao processamento de cores. No meio do espectro fotossensível, tem-se a visão mesópica (i.e., entre 10^{-1} a 10^1 unidades de intensidade em cd/m^2) que funciona sob a atuação conjunta de cones e bastonetes) (Auerbach & Burian, 1955) (Fig. 3).

Para que um fotorreceptor responda a estímulo luminoso, é necessário que exista absorção de luz em pigmentos visuais, as opsinas, em conjunto com aldeídos retinianos chamados de retinal (ou 3,4-dehydroretinal) (von Lintig et al., 2010). A absorção da luz gera a isomerização do 11-cis, convertendo rodopsina em um catalisador da transducina. É a partir dessas estruturas das opsinas que os bastonetes e cones respondem à luz.

Fig. 3

Alcance Visual e Sua Relação com os Fotorreceptores



Para que um fotorreceptor responda a estímulo luminoso é necessário que exista absorção de luz em pigmentos visuais, as opsinas, em conjunto com aldeídos retinianos chamados de retinal (ou 3,4-dehydroretinal) (von Lintig et al., 2010). A absorção da luz gera a isomerização do 11-cis, convertendo rodopsina em um catalisador da transducina. É a partir dessas estruturas das opsinas que os bastonetes e cones respondem à luz.

De modo geral, os bastonetes são responsáveis pela amplificação do sinal que é levado ao córtex. Além disso, têm baixa resolução temporal e baixa velocidade de resposta ao estímulo. Por outro lado, os cones têm maior quantidade de fotopigmentos do que os bastonetes, apresentam saturação demorada, processam de forma rápida os estímulos e têm alta resolução temporal e maior densidade na fóvea (Auerbach & Burian, 1955; Vleugels et al., 1998).

1.3 Psicofísica Visual: Aplicações Teóricas e Práticas

A representação da sensibilidade espectral dos humanos é feita por meio de diagramas, como os diagramas da Comissão Internacional de Iluminação (*Commission Internationale de l'Eclairage* – CIE) (Connolly & Fleiss, 1997; CIE, 1987). Durante muito tempo, novos termos foram adicionados ao estudo do processamento visual, como luminosidade e “brilho”. A luminosidade pode ser definida como atributo da percepção pelo qual a intensidade relativa das superfícies é refletida. Já o “brilho” pode ser definido como a sensação visual com que uma determinada região emite mais ou menos luz (Blakeslee et al., 2008; Blakeslee & McCourt, 2015; CIE, 1987). Então, ao comparar estímulos isoluminantes cromáticos e acromáticos, os estímulos cromáticos irão apresentar maior “brilho”. Isso pode ter relação com a saturação da cor (que causa mais brilho) – mas não com a luminância. Assim, quanto maior for a pureza de uma cor, maior será seu “brilho” (Blakeslee et al., 2008).

O contraste, dentro do campo de estudo da psicofísica, relaciona-se às diferenças entre luminância (das áreas adjacentes a um estímulo) e cor, e à percepção dessas diferenças (Shapley & Lam, 1993). Tais atribuições são imprescindíveis para o processamento visual, uma vez que distinguir um estímulo do seu fundo, caracterizando

textura, cor, forma, movimento, é a base de como as cenas visuais são experienciadas (Santos & Simas, 2001).

Assim, medir a sensibilidade ao contraste (SC) de uma pessoa, ou seja, a capacidade de distinguir entre pequenas diferenças de luminância, fornece uma indicação de quão acurado está o funcionamento visual básico. Apenas para ilustrar, dirigir um carro sob grande neblina é um exemplo claro de que condições extremas exigem alta SC.

1.3.1 Sensibilidade ao Contraste Visual: Contraste Acromático

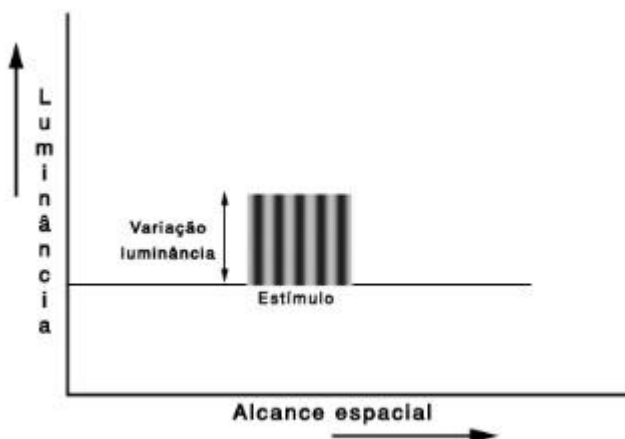
A AV refere-se à visão em altos níveis de contraste para detectar um objeto. Ainda assim, é possível que uma pessoa com visão normal para altos níveis de contraste (20/20) apresente prejuízos para detectar objetos ou estímulos que estejam relacionados a frequências com maior nível de contraste (Shapley & Lam, 1993). Uma das explicações é que a AV é medida pelo mínimo ângulo de resolução; resolução, por sua vez, pode ser medida utilizando letras de diferentes tamanhos (ver Fig. 1). Esse tipo de medida, no entanto, requer discriminação e identificação, que é um processamento mais complexo do que a detecção de contraste (Shapley & Lam, 1993). De modo simples, enquanto testes para AV mensuram limiares para discriminação de letras, números ou símbolos, testes que utilizam grades buscam a detecção sem a necessidade de reconhecimento do estímulo. Assim, o limiar para detecção do contraste será, geralmente, sempre menor do que o limiar de contraste para identificação (Shapley & Lam, 1993).

A mensuração de funções visuais básicas, como a SC visual, foi introduzida no final da década de 1940 (Schade, 1948; Shapley & Lam, 1993). A SC de uma pessoa é o inverso do seu limiar de contraste. No campo da psicofísica, isso indica quão acurada a visão de uma pessoa é para detectar pequenas diferenças de luminância entre um objeto e o

fundo. Quanto menor for essa diferença, melhor a SC. Essa definição está relacionada ao contraste de luminância (Fig. 4).

Fig. 4

Apresentação de um Estímulo em um Fundo Isoluminante.



Nota. A variação de luminância e a variação da frequência contribuem para a sensibilidade ao contraste. Modificada de: <https://entokey.com/contrast-sensitivity/>

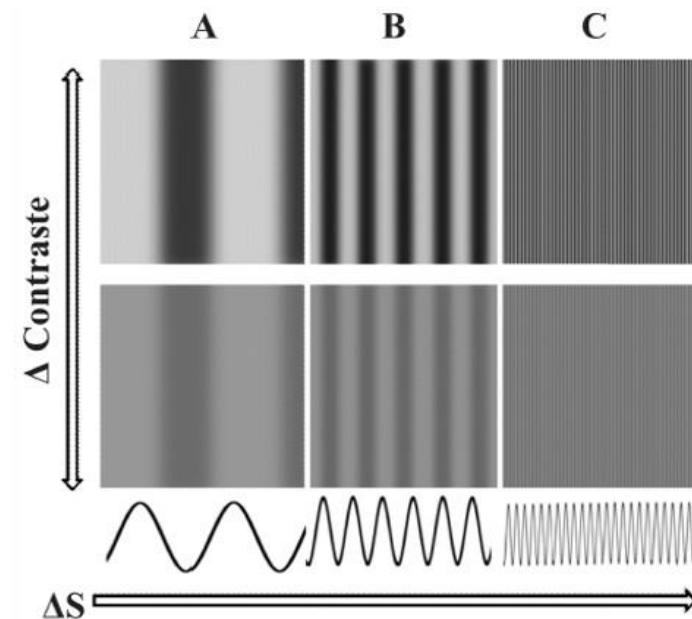
A SC é geralmente mensurada utilizando grades senoidais com diferentes frequências espaciais (variações de luminância ou diferentes barras ou grades). Nesse tipo de estímulo, a luminância varia em uma função seno ou cosseno, formando um padrão regular de barras (Fig. 5).

Além de grades senoidais, também existem outros estímulos como, por exemplo, estímulos do tipo “glass”. No entanto, a diferença de outras formas de onda (e.g., quadrados ou triângulos) não parece ter enorme vantagem na psicofísica visual, uma vez que estas outras ondas podem ser descritas e interpretadas como puramente uma somação linear das grades senoidais de diferentes frequências espaciais. Definir o limiar para uma grade senoidal ajuda a calcular a sensibilidade para grades em ondas quadradas. De modo

geral, a SC espacial está relacionada ao número de ciclos por grau em que uma frequência espacial é detectada (Pelli & Bex, 2013).

Fig. 5

Exemplos de Frequências Espaciais



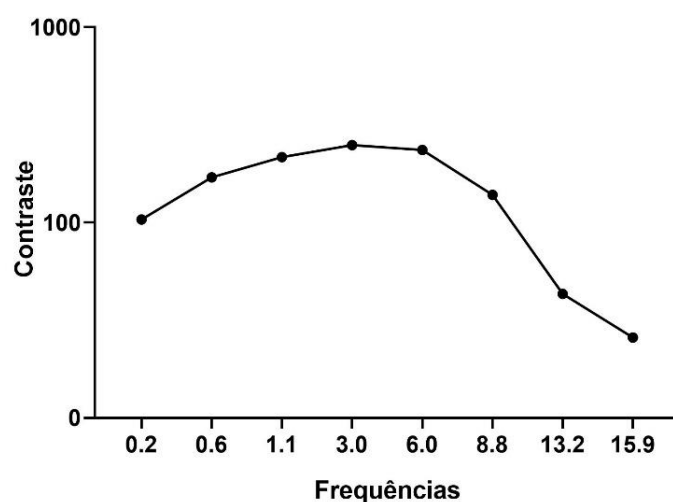
Nota. Os estímulos apresentados variam em função do nível de contraste (alto contraste em cima; baixo contraste embaixo) e em relação às frequências espaciais baixas (A), intermediárias (B) ou altas (C). Retirada de Lacerda et al. (2011)

Como observado na Fig. 6, para uma luminância média de 40 cd/m², o pico da SC foi observado nas frequências espaciais de 3,0 e 6,0 ciclos por grau (barras de 6 e 12 arcmin, respectivamente). Para essas frequências espaciais, o menor limiar de contraste *Michelson* corresponde a 0,3% (ou 0,8 contraste de *Weber*). A área sob a curva de uma função de SC pode ser interpretada como uma medida da excitação de todos os canais que respondem a cada frequência espacial. Essa área sob a curva da SC é geralmente usada para representar a quantidade de informações espaciais que o SV consegue detectar. Em

níveis fotópicos, as frequências espaciais na faixa intermediária, entre 3 e 6 ciclos por grau (Fig. 6), são mais facilmente detectadas do que frequências espaciais mais altas e mais baixas. Na luminância mais alta, a sensibilidade a uma grade de 0,3 ciclo por grau corresponde a menos de 15% da sensibilidade máxima em torno de 3 ciclos por grau.

Fig. 6

Função de Sensibilidade ao Contraste



Nota. A curva representa a função, e os pontos representam as frequências em função do contraste. Adaptada de Fernandes et al. (2019).

As células relacionadas ao processamento espacial podem ser classificadas como simples ou complexas (Cornsweet, 2012). As células simples respondem a linhas ou grades, tendo afinidade com a orientação e posição. As células complexas também respondem a linhas e bordas, mas não têm afinidade com região branca-preta. Por volta de 1970, a teoria de que o SV apresenta mecanismos ou canais sensíveis a diferentes frequências espaciais foi postulada (Campbell & Robson, 1968; Campbell & Maffei, 1974; Santos & Simas, 2001). Essa teoria é chamada teoria dos canais múltiplos. Assim, cada um desses canais responde a uma relativa banda de frequência, e juntos eles formam o nosso

alcance visual espacial. A sensibilidade para cada canal, relacionada às larguras de bandas, é limitada em cerca de uma oitava (Santos & Simas, 2001b). Isso se deve à organização de campos receptivos em áreas excitatórias e inibitórias. Campos receptivos e frequências espaciais são conceitos complementares na análise de imagens espaciais e na análise de *Fourier*.

Para um determinado estímulo, acredita-se que o mais sensível desses canais (ou mecanismos) determine o limiar psicofísico, mas também contribua para a resposta sensorial. Nesse caso, a resposta pode ser uma soma vetorial das respostas de vários canais. Além de serem seletivas para a frequência espacial, as células desses canais geralmente têm uma orientação preferida. Isso ocorre porque cada célula possui um campo receptivo alongado, dando uma resposta mais alta quando uma borda de contraste é alinhada com o eixo longo do campo receptivo do que quando está desalinhada.

Curvas de SC espacial podem fornecer informações valiosas sobre a capacidade visual de uma pessoa que não podem ser expressas pela acuidade visual. Estudos têm mostrado que pessoas com sensibilidade reduzida possuem maior deficiência visual na vida diária e podem ter relação com estados de humor (Bubl et al., 2015; Fernandes et al., 2019). O SV lida com contrastes cromáticos e contrastes de luminância de maneiras distintas, indicando diferença fundamental nos mecanismos neurais para o processamento cromático e de luminância. No entanto, o SV também apresenta similaridades no processamento desses contrastes.

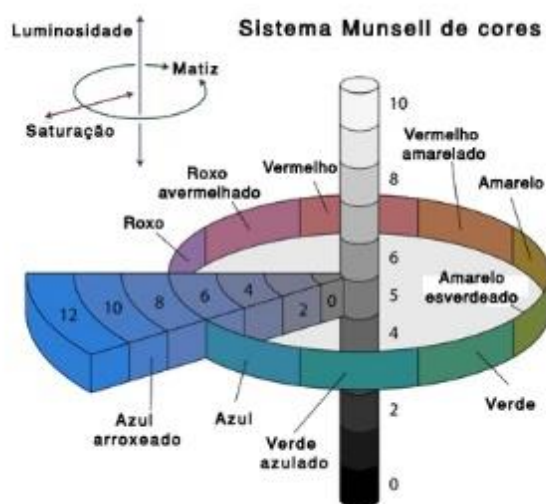
1.3.2 Sensibilidade ao Contraste Visual: Contraste Cromático

A cor é um construto psicológico, podendo ter impacto no humor, na memória etc. (Elliot & Maier, 2014). No entanto, pode ser definida em termos físicos a partir de três dimensões: matiz, saturação ou intensidade da cor, e luminosidade ou “brilho”. O matiz

distingue um verde azulado de um verde amarelado, e, de acordo com o CIE, as matizes variam em 360° de acordo com o plano vertical que corresponde à luminosidade (Webster, 2018). A saturação ou intensidade de uma cor indica o quanto um componente cromático sai do espectro acromático, branco ou cinza. A luminosidade, ou brilho, é uma dimensão de intensidade que varia em função de sua refletância (Fig. 7).

Fig. 7

Ordenamento das Cores (Sistema Munsell de Cores)



Nota. O corte vertical mostra a variação de luminosidade ou brilho (do branco ao preto). As cores que circundam o corte vertical representam as matizes. No plano perpendicular ao eixo vertical, encontra-se a saturação ou intensidade de uma cor, podendo ser mais forte ou fraca (no caso, azul ou roxo azulado, respectivamente).

Variações no espectro visível para cores dependem da reflexão espectral. A impressão de que os olhos detectam todas as cores como um bom analisador do espectro visível é apenas indicada sob condições controladas (i.e., para objetos que são vistos em ambientes neutros, escuros, ou sob outras condições) (Maloney & Wandell, 1986). De modo geral, existe uma variância no que diz respeito à impressão de que a reflexão dos

comprimentos de onda curtos, médios e longos irão sempre representar azul, verde ou vermelho para as pessoas (Elliot & Maier, 2014). No dia a dia, sob alguma fonte luminosa, como à luz do dia, a reflexão que circunda um objeto em uma cena visual, tende a refletir uma cor sem toda a pureza que um comprimento de onda longo teria em condições de estudo.

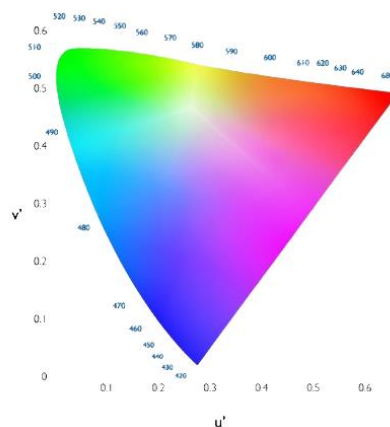
Em relação à subtração de cores, esse processo depende da transmissão espectral. Quando verde e vermelho são apresentados concomitantemente em uma superfície, o resultado pode ser um verde, em vez do amarelo. Isso pode ser explicado uma vez que a luz que é transmitida atravessa essas cores, perdendo sua luminância. Assim, a transmissão espectral dos componentes de onda é mais presente do que a cor, por isso há uma subtração do que é projetado. Em relação à adição de cores, esse processo depende mais das propriedades refletoras da retina. A mistura de cor aditiva é mais brilhante que cada um dos componentes de onda separadamente. Esses dois aspectos são fundamentais para nosso entendimento da visão de cores, pois, em condições de visualização estáveis, a cor de uma mistura de cores subtrativa é determinada pelas distribuições de potência espectral de seus componentes, enquanto em uma mistura aditiva apenas as aparências das cores são importantes (Beck, 1978; MacAdam, 1953). De modo breve, a mistura aditiva envolve adição ou mistura de comprimentos de luz enquanto a mistura subtrativa envolve a mistura ou subtração de pigmento.

As combinações de cores são geralmente explicadas por meio da absorção de luz e pelas excitações dos três tipos de cones. Nesse sentido, sistemas para a medição de cores foram criados (Lakowski, 1969). Dentre eles, o CIE é um dos mais conhecidos e utilizados na psicofísica visual (Fig. 8). No entanto, é importante mencionar que o uso do CIE e de medidas para a avaliação de cores, especificando seus valores ou coordenadas de

cromaticidade, apenas indica quais estímulos corresponderão (em condições de visualização idênticas) e fornece poucas informações sobre a aparência de cores em uma situação normal de visualização, como no dia a dia. Isso se explica porque, além de sua cromaticidade, a aparência de uma cor depende de vários fatores, como a cor da iluminação, o contraste simultâneo e a adaptação retiniana (Lakowski, 1969; Webster, 2018). Considerando o CIE, são necessárias três coordenadas para especificar completamente um estímulo de cor. A forma mais comum de apresentação é derivada das coordenadas de cromaticidade (e.g., podendo ser xy ou $u'v'$) em relação à luminância (geralmente em cd/m^2) (CIE, 1987).

Fig. 8

Exemplo do Espaço de Cores CIE em Unidades $u'v'$



Nota. Retirada de: <https://img.favpng.com>

Considerando a cromaticidade de estímulos em um diagrama de cores, um número igual de vetores é distribuído, formando elipses. Chamadas de Elipses de *MacAdam*, elas variam de tamanho no diagrama (MacAdam, 1942). Isso significa que diferenças de cores igualmente grandes são reproduzidas no diagrama em comprimentos diferentes, dependendo da cromaticidade do alvo e da direção do alvo. As elipses são pequenas nos

cantos azul e violeta do diagrama e grandes na região verde. Ainda, essas elipses representam cortes transversais através de elipsoides no espaço CIE (MacAdam, 1942). É importante compreender tanto como os estímulos cromáticos são dispostos no diagrama, em forma de vetores ou elipses, quanto como a psicofísica visual contribuiu para o desenvolvimento de testes e técnicas em modelos empíricos (Bonnardel et al., 1996; Bramwell & Hurlbert, 1996; Macadam, 1953).

As cores são essencialmente diferentes dos fenômenos físicos e das propriedades dos objetos que as produzem, como a radiação eletromagnética e a seletividade espectral das superfícies. Embora esses fenômenos contribuam para a formação de estímulos de cores no córtex, não existe o termo “cor”. A cor azul, por exemplo, não é um fenômeno físico. Ela é um construto subjetivo percebido. Para diferenciar processos físicos e fisiológicos, tal como para observar uma cena visual, cores e contrastes são elementos fundamentais (Elliot & Maier, 2014).

Algumas teorias foram formadas ao longo do tempo para explicar como o SV processa cores (Webster, 2018). Dentre as teorias, duas ganharam emergiram e se complementaram. A teoria tricromata indica que a percepção cromática pode ser explicada pela absorção luminosa em três tipos de cones. Ela aborda que cada classe de cone corresponde a um processo cromático: azul (ou *short-cones*; S-cones), verde (ou *middle-cones*; M-cones) e vermelho (ou *large-cones*; L-cones). Assim, os cones seriam denominados R-G-B (*red, green, blue*; ou vermelho, verde e azul) e todas as cores derivariam da excitação dos mesmos em proporções diferentes. A formação do amarelo seria decorrente do processo envolvendo os cones verde e vermelho, por exemplo (Helmholtz, 1852; Young, 1802). Por outro lado, a teoria de oponência aborda que o processamento cromático não depende apenas do funcionamento dos três cones, mas de

quatro elementos cromáticos e dois acromáticos. De forma simples, os quatro elementos cromáticos agrupam-se em dois (verde-vermelho, azul-amarelo) e os elementos acromáticos em um (preto-branco). Essa teoria também aborda que as cores variam de acordo com as pessoas e apresentam processos fisiológicos antagonistas. Ainda, a percepção de cor não está localizada nos fotopigmentos, mas em substratos neurais nas vias visuais (Conway et al., 2018; Lee et al., 2002; Pasmanter & Munakomi, 2020).

A teoria de oponência foi amplamente considerada e trouxe destaque ao processo de que, tal como o contraste acromático, a informação relacionada ao contraste cromático também percorre retina, núcleo geniculado lateral (NGL) e córtex visual (Schmidt et al., 2014; Webster, 2018). Um dos exemplos mais utilizados para explicar isso é o de constância de cores. A constância de cores refere-se ao fato de que, quando a iluminação muda, a aparência da cor dos objetos que refletem essas diferentes distribuições espectrais não muda da maneira esperada. A grama é verde em qualquer ocasião. A experiência subjetiva das cores tem relação com processo fisiológico oponente com dois tipos de respostas: excitação e inibição. Essa é uma das habilidades do SV em adaptar e neutralizar a cor predominante que ilumina o ambiente (Maloney & Wandell, 1986; Smith, 2015).

Nesse sentido, alguns estudos foram realizados para delinear o funcionamento dos fotorreceptores e de como os humanos processam as cores (Pasmanter & Munakomi, 2020; Smith, 2015). Estudos observaram que prejuízos em bastonetes e/ou cones afetam a forma como as cores são percebidas e traçaram conceitos para isso (Simunovic, 2016). A monocromacia refere-se ao caso em que uma pessoa contém apenas um tipo de fotorreceptor, os bastonetes. Uma pessoa monocromata consegue apenas distinguir o brilho dos objetos quando eles são comparados a outros mais escuros; no entanto, não há processamento de cor. Apesar de tricromatas saudáveis e monocromatas utilizarem os

bastonetes da mesma forma à noite, a interpretação do sistema nervoso de ambos é completamente diferente. Também existe outro tipo de monocromacia, quando uma pessoa apresenta um único tipo de fotorreceptor cone e o fotorreceptor bastonete. Acredita-se que essas pessoas processem cores de forma rudimentar, diferenciando apenas uma pequena faixa de comprimentos de onda do espectro visível. Para esse tipo de prejuízo, a excitação de cones e bastonetes pode ser representada em espaços ortogonais, mas dimensionais (diferente das pessoas saudáveis) (Simunovic, 2016).

O prejuízo mais comum da visão de cores é uma capacidade reduzida de discriminar cores para o verde-vermelho e amarelo do espectro visível. Esse problema pode afetar pessoas que não têm os fotorreceptores para comprimentos longos ou médios na retina, dando origem a dois grupos igualmente grandes com prejuízos para verde-vermelho de forma difusa. Para qualquer um dos tipos, a discriminação de cores é reduzida para duas dimensões em vez de três; a isso se dá o nome de dicromacia. Prejuízos nos L-cones levam a um defeito de visão de cor vermelho-verde chamado protanopia, enquanto um pigmento ausente do M-cone leva a outro defeito no verde, chamado deuteranopia. Em ambos os casos, acredita-se que os cones longos sejam normais. Por último, a falta de S-cones, prejudicando a percepção do azul, é chamada tritanopia (Naifeh & Kaufman, 2020; Simunovic, 2016).

Tricromatas saudáveis, que possuem os três tipos de fotorreceptores ou fotopigmentos (S-, M- e L-cones), conseguem ver de forma tridimensional. No entanto, prejuízos na visão de cores em tricromatas saudáveis também ocorrem. Eles podem ter origem em transtornos neurológicos (e.g., AVC ou *split-brain*; Crognale et al., 2013; Levy & Trevarthen, 1981), transtornos do desenvolvimento (e.g., transtorno do espectro autista; Simmons et al., 2009), transtornos psiquiátricos (e.g., transtorno bipolar; Fernandes et al.,

2017) ou condições que afetem alguma das vias visuais (Claeys et al., 2004; Koçak-Altintas et al., 2000).

Para que o processamento visual seja avaliado, os testes precisam ser rápidos, mas fidedignos. Com o avanço da tecnologia, diversos testes foram criados. Os testes de arranjos (e.g., *Lanthony D-15*) ajudam na discriminação de cores, ou matizes, que podem ou não variar em relação à sua saturação. Todavia, alguns desses testes podem ser demorados, requerer múltiplas aplicações e sofrer efeito de aprendizagem (Good et al., 2005) ou inteligência (Cranwell et al., 2015).

A partir disso, testes computadorizados foram desenvolvidos com a intenção de agilizar a testagem e de evitar grandes diferenças inter- e intra-indivíduos (Mollon et al., 2017). Dentre eles, existem duas ferramentas clássicas, porém fidedignas, que avaliam a sensibilidade ao contraste visual acromática e cromática: o *Metropsis* e o *Cambridge Colour Test* (Mollon & Regan, 2000). Conforme observado em estudos, ambos os testes apresentam tempo de apresentação relativamente rápido (entre cinco a 30 minutos) e sofrem pouco efeito de aplicação ou aprendizagem. O *Metropsis* é um dos testes para avaliar a SC acromática e apresenta fidedignidade mesmo com amostras pequenas ($n = 10$) (Fernandes et al., 2019). O *Cambridge Colour Test* (CCT) é um teste para avaliar a SC cromática e apresenta fidedignidade para amostras clínicas e saudáveis (Fernandes et al., 2020; Hasrod & Rubin, 2019). É importante mencionar que, além desses testes comportamentais, ou de detecção/discriminação, existem outras ferramentas rápidas que avaliem a nível fisiológico, como os eletroretinogramas (Bounds, 1953) ou potenciais relacionados a eventos (Woodman, 2010), por exemplo. Assim, o uso de ferramentas como essas faz com que a psicofísica visual seja um campo de estudo robusto. E, uma vez que a

visão é uma das portas de entrada para processos superiores, compreender a SC ajuda a compreender melhor o sistema nervoso.

Capítulo 2 – Neuropsicofarmacologia da Nicotina

2. A Fisiologia da Nicotina

2.1 De Onde Vem a Nicotina?

O cigarro contém diversos componentes, orgânicos e inorgânicos, que são prejudiciais à saúde, como metionina, sulfato de cobre, nicotina, cádmio, dentre outros carcinogênicos (WHO, 2015). Durante muito tempo, a maior parte dos estudos focou na psicofarmacologia da nicotina devido à considerável constituição dos alcaloides encontrados no cigarro (Benowitz, 2010). É preciso, todavia, compreender os aspectos moleculares e celulares da nicotina para que se possa, igualmente, compreender o funcionamento da nicotina no organismo.

A nicotina é o principal alcaloide encontrado nas folhas do tabaco, podendo chegar a mais de 80% do conteúdo total existente dos alcaloides (Lisko et al., 2015). De modo geral, os alcaloides são sintetizados nas raízes do tabaco e transportados pelas folhas de acordo com seus gradientes. A nicotina é mais presente em regiões da folha como a lâmina foliar ou estípulas do que em regiões próximas às raízes (Saunders & Bush, 1979). A combinação de variedades de plantas do tabaco contribui substancialmente para a quantidade dos alcaloides que estão presentes nos cigarros.

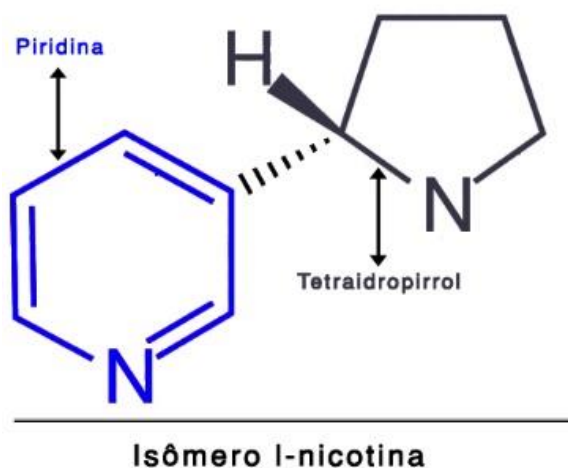
Plantas de tabaco que são cultivadas ao ar livre, passando por fermentação, têm geralmente uma menor quantidade de alcaloides do que outros tipos de plantas (Lisko et al., 2015; Saunders & Bush, 1979). Esse tipo de tratamento altera o potencial hidrogeniônico (pH) do cigarro, podendo alcançar 5-7 em alguns cigarros, por exemplo. A diferença no pH do cigarro tem total impacto na farmacocinética e farmacodinâmica da nicotina, contribuindo para um metabolismo mais rápido ou mais lento, podendo atingir o cérebro e se dissipar em todo o organismo em poucos minutos ou em diversas horas.

2.2 Farmacocinética: Absorção, Distribuição e Eliminação

Sendo um alcaloide do grupo das aminas, a nicotina é composta por anéis de piridina e tetraidropirrol. A estrutura da nicotina (Fig. 9) é geralmente representada por seu maior estereoisômero, a l-nicotina, que apresenta maior atividade farmacológica quando comparado ao isômero d-nicotina, por exemplo.

Fig. 9

Estrutura Química da Nicotina



Nota. Modificada de: pngfuel.com

Apesar de ter um maior nível de atividade farmacológica no organismo, a combustão expele apenas 10% da nicotina na fumaça do cigarro, enquanto as demais quantidades estão distribuídas pelo corpo (Balfour & Munafò, 2015). Por isso, acredita-se que a nicotina é o principal agente viciante do cigarro. Além disso, a forma como a nicotina é ingerida – ou entra em contato com o organismo – também é grande indicador do comportamento adicto. Vale reiterar que, apesar da sua alta atividade farmacológica e alta distribuição no organismo, a nicotina é apenas um dos mais de 4,000 componentes do cigarro.

Como mencionado, alguns cigarros apresentam pH alcalinos (na faixa do pH = 7), correspondendo ao pH fisiológico humano (Aoi & Marunaka, 2014; Benowitz et al., 2009). Com isso, cerca da metade da nicotina existente pode ser facilmente absorvida pelas membranas celulares. A distribuição espacial de cátions de hidrogênio (H^+) favorece a interação entre outras substâncias e outras regiões do corpo, como a retina (Hammond et al., 1996; Oharazawa et al., 2010). A absorção da nicotina é totalmente dependente do pH das membranas celulares. Assim, a forma como a folha de tabaco é tratada influencia diretamente na velocidade e intensidade em que a nicotina será absorvida pelo organismo. Ao fumar, a nicotina é rapidamente absorvida pela mucosa oral e nasal (devido à grande vascularização e facilidade de transpor os epitélios).

É de fundamental importância mencionar que, diferente de outras formas de absorção, o fumo agiliza o processo de ingestão dos componentes dos cigarros, uma vez que eles não passam pelo metabolismo de primeira passagem (i.e., que ocorre quando uma substância é filtrada pelo fígado antes de alcançar a corrente sanguínea, causando redução na quantidade ingerida inicialmente) (Alsharari et al., 2014; Benowitz et al., 2009). Para ilustrar, a nicotina absorvida sem ser através do fumo passa pelo metabolismo hepático e constitui biodisponibilidade de apenas 30% em comparação ao fumo (Benowitz et al., 2009; Gupta et al., 1993).

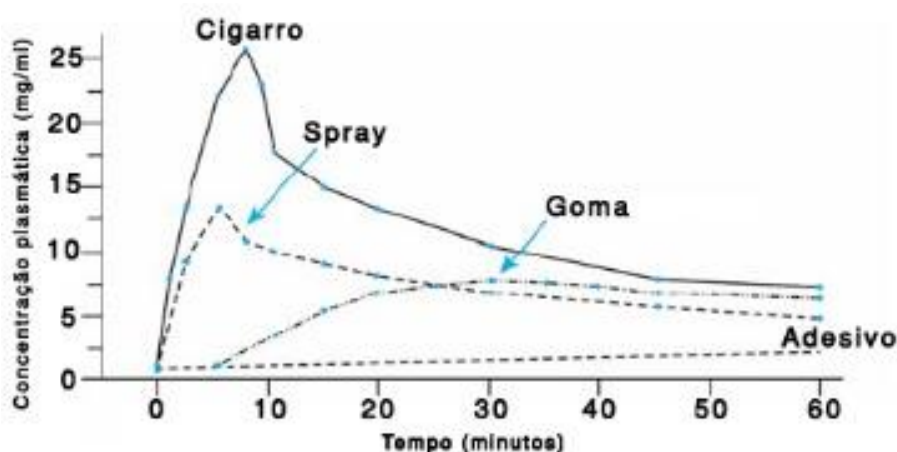
Após inalação, as substâncias existentes no cigarro alcançam os alvéolos pulmonares. De lá, os capilares e vasos existentes ajudam a liberar os demais conteúdos do cigarro na corrente sanguínea. Isso é acelerado devido à grande concentração de fluxo sanguíneo que perpassa os capilares pulmonares. Benowitz et al. (1988) observaram como a distribuição da nicotina ingerida pelo cigarro apresentou diferenças da quantidade obtida e distribuída por meio de outros meios de administração, como as gomas de nicotina e os

adesivos de nicotina. Utilizando o meio intravenoso para administração de nicotina, juntamente à concentração plasmática, eles conseguiram observar que a quantidade de nicotina (mg/ml) decorrente do cigarro é muito maior e dura todo o tempo em que o cigarro está sendo fumado.

Por outro lado, a administração de nicotina por outro meio, como a goma, alcança seu pico em 30 minutos após administração e com rápida atenuação, principalmente quando a goma é retirada da boca. Isso é condizente com os achados de Russell et al. (1976), nos quais eles também observaram o pico da nicotina entre 15-30 minutos e decaimento após isso. Neste sentido, McNeil et al. (2010) também obtiveram resultados similares, contribuindo para o avanço das pesquisas relacionadas à terapia de reposição de nicotina (Fig. 10). Apesar da absorção da nicotina variar de acordo com as pessoas, o consenso é que: o tabagismo prejudica mais do que o uso de nicotina por outros meios.

Fig. 10

Concentração Plasmática da Nicotina



Nota. O pico plasmático para a nicotina absorvida por meio do cigarro ocorre rapidamente, com alta duração e curto decaimento. Outras formas de administração de nicotina (e.g.,

spray, goma ou adesivo) apresentam picos variados, porém com baixas concentrações plasmáticas. Adaptada de McNeil et al. (2010)

Benowitz et al. (2010) ainda verificaram aspectos farmacológicos da dependência à nicotina. Uma das questões levantadas foi: será que a quantidade de nicotina absorvida varia de acordo com a tragada? Em seus achados, eles apontaram que a dependência é diretamente proporcional à quantidade de tragadas, intensidade e tempo fumando. Esses achados indicaram que uma pessoa tende, geralmente, a ingerir cerca de 1-mg de nicotina por cigarro. No entanto, a nicotina não é absorvida puramente. Essa absorção, junto aos demais componentes do cigarro, aumenta exponencialmente o risco de dependência. A principal conclusão é de que a nicotina pode levar à dependência, porém associada aos componentes dos cigarros e da fumaça inalada. Esses dados foram corroborados por outros autores (Jarvis et al., 2001; Russell, 1980). Importante mencionar que a relação entre absorção e dependência também foi observada para o tabaco mascado e a goma de nicotina: a intensidade em que o produto é mascado pode aumentar a absorção (Benowitz et al., 1987). Apesar disso, a nicotina ingerida não ultrapassa valores maiores porque ela tende a diminuir após o pico (30 minutos) ou após o produto parar de ser mascado (ver Fig. 1, conforme McNeil et al., 2010).

De acordo com essas informações, a única forma da nicotina alcançar a corrente sanguínea – pulando o metabolismo de primeira passagem – é pelo cigarro fumado. Isso ocorre porque a distribuição dos componentes do cigarro alcança primeiro o sistema nervoso do que a circulação sistêmica. Benowitz (1990) observou que o tempo em que a nicotina leva para alcançar o encéfalo é de, no máximo, 20 segundos (Tabela 1). Isso é mais rápido do que uma substância farmacológica (e.g., um remédio) injetada de forma intravenosa. A distribuição desses componentes é rápida, e decaem após 30 minutos.

Tabela 1*Influência da Nicotina no Organismo Após Inalação.*

Ação	Segundos
Tempo de tragada	2,0
Tempo de circulação pulmonar	7,5
Tempo levado para circulação cerebral	1,0
Tempo de transporte cerebral	8,5
Tempo total de circulação	19,0

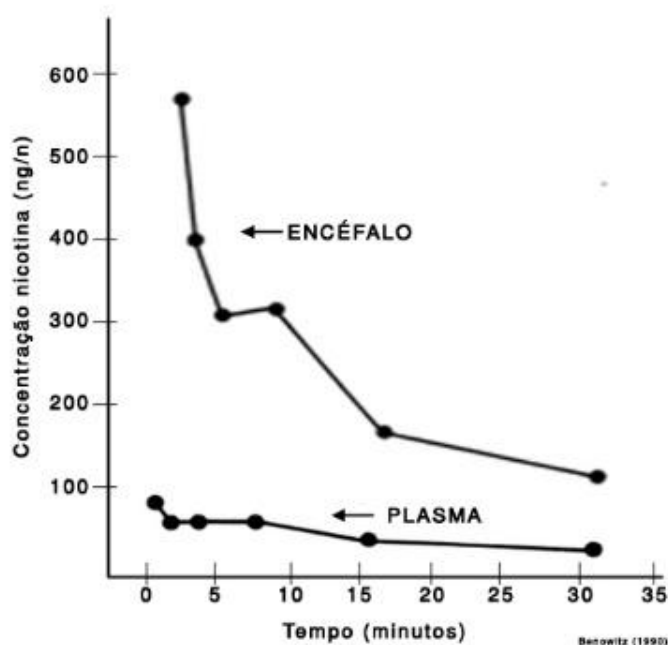
Nota. Distribuição temporal em relação à farmacocinética. Adaptada de Benowitz (1990).

No entanto, após injeção intravenosa de nicotina, a concentração de nicotina no encéfalo apresenta valores muito maiores do que a concentração arterial (ou plasmática), principalmente após os minutos iniciais da aplicação (Benowitz, 1990) (Fig. 11). Nesse percalço, também há aumento e redistribuição em outros tecidos, principalmente os tecidos esqueléticos. Junto com os fatos supracitados, há um consenso de que os efeitos farmacológicos do tabagismo, e nicotina, alcançam mecanismos que aumentam a tolerância mesmo após poucos cigarros.

A nicotina é metabolizada no fígado, nos pulmões e nos rins através do CYP2A6, o qual expressa diversas enzimas da superfamília dos citocromos P450 (que também podem ser encontrados na retina, lobo límbico e em outras regiões do sistema nervoso central). A excreção depende do pH e representa entre 10-20% da eliminação total da nicotina; outros 70-90% são metabólitos. A meia vida da nicotina ocorre após duas horas, mas pode variar entre duas e quatro horas, dependendo da pessoa. Os principais metabólitos (i.e., o produto da metabolização e o que é excretado) da nicotina são a cotinina e a nicotina n-óxido.

Fig. 11

Concentração de Nicotina no Encéfalo e Plasma Arterial



Nota. Concentração de nicotina após injeção intravenosa de ,1 mg/kg de nicotina.

Adaptada e modificada com permissão de Benowitz (1990).

A cotinina deriva da oxidação dos citocromos P45, e seu maior metabólito é a trans-3-hidroxicotinina (Benowitz et al., 1994). A cotinina é o metabólito com maior meia-vida (dura aproximadamente 20 horas) (Jarvis et al., 1988), sendo amplamente utilizada como biomarcador – principalmente para observar a quantidade em pessoas que desejam parar de fumar ou na terapia de reposição de nicotina. A cotinina também é um dos principais metabólitos envolvidos na degeneração de regiões do sistema nervoso, como na retina (e.g., degeneração macular) (Sastry & Hemontolor, 1998). Novamente, a nicotina apresenta propriedades danosas quando associadas ao uso do cigarro. Mais do que um biomarcador, a cotinina, quando metabolizada sem associação ao cigarro, tem importante

relevância para aspectos mnemônicos (Echeverria et al., 2011) ou fisiológicos, como redução da ansiedade (Zeitlin et al., 2012).

Apesar de alguns autores considerarem a existência de diferenças entre pessoas na absorção e eliminação de nicotina (Allen et al., 2016), outros observaram similaridades nesses aspectos (Ah et al., 2016). No entanto, isso apenas explicaria uma pequena porção relacionada ao metabolismo de nicotina. Existem diferenças maiores que estão relacionadas ao hábito de fumar, às diferenças étnicas ou à “facilidade” em parar de fumar, que pode ser mais comum em mulheres, pois acredita-se que fumem menos (Mr et al., 2018).

De todo modo, uma vez que a excreção da nicotina corresponde a mais de 65% do seu total no organismo, e isso depende do fluxo sanguíneo, qualquer evento fisiológico terá impacto direto no metabolismo da nicotina (e.g., exercícios ou medicações) (Benowitz, 1988; Gupta et al., 1993).

2.3 Mecanismos Celulares da Nicotina: Uma Visão Geral

A nicotina interfere nos processos fisiológicos do organismo, mimetizando a ação da acetilcolina. Seu mecanismo ocorre por meio da ativação de um dos dois tipos de receptores de acetilcolina (os nicotínicos; o outro tipo é o muscarínico), por isso esses receptores são denominados de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) (Dani, 2015a; Zoli et al., 2018).

Os nAChRs pertencem à família dos canais de íons ativados por ligantes (canais iônicos dependente de ligantes), que são proteínas transmembranares envolvidas na resposta rápida aos neurotransmissores. Eles podem existir em diferentes estados estruturais interconversíveis. A ligação de nicotina estabiliza, de forma transiente, a abertura do canal transmembranar que permitirá que a passagem de íons positivamente

carregados (cátions). Em particular, íons de sódio e de cálcio irão adentrar na célula. Essa ativação dos nAChRs, em seguida, modifica o estado de neurónios através de vários mecanismos. Os nAChRs são formados por cinco subunidades dispostas simetricamente em torno do canal iônico. Essas subunidades pertencem a uma família multigênica, o que torna possível a existência de um grande número de diferentes receptores (Changeux et al., 1992; Dani, 2015a).

Os receptores nicotínicos são encontrados em todo o sistema nervoso, tendo uma expressão bastante complexa em todo o sistema nervoso. Devido a essa variedade, os nAChRs podem representar pleiotropia, isto é, ter diversas expressões no organismo. Esses efeitos, que apresentam consequências comportamentais, por vezes tornam difícil o estudo a longo prazo em humanos.

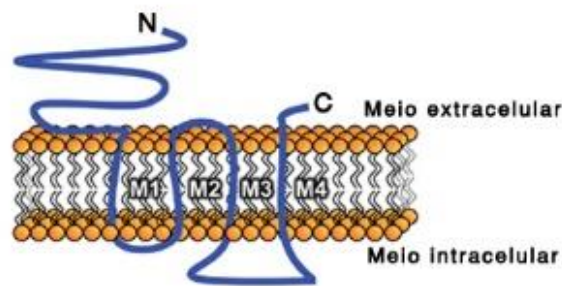
2.3.1 As Subunidades dos Receptores Nicotínicos

O estudo dos eletrócitos (órgãos elétricos) de enguias foi pioneiro na descrição e compreensão dos nAChRs (Changeux et al., 1970). Por meio desse, ainda, descobriu-se que os nAChRs são proteínas compostas por cinco unidades (pentâmeros) e que formam diferentes tipos de subunidades (Fusco et al., 2000; Itier & Bertrand, 2001). Essas foram denominadas de subunidades *a*, *b*, *c* e *d* de acordo com a sua massa molecular. Mais tarde, uma outra subunidade *e* foi descoberta (Changeux, 2018; Changeux et al., 1992). Como mencionado, as subunidades dos nAChRs pertencem à superfamília dos canais de íons ativados (ou dependentes de) por ligantes, que compartilham de propriedades farmacológicas com receptores de neurotransmissores como ácido gama-aminobutírico (GABA), glicina e a serotonina (Dani, 2015; Rothlin et al., 1999). As subunidades dos nAChRs apresentam similaridades nos domínios transmembranares. Uma parte mais larga do N-terminal (amino-terminal), que transporta os componentes do receptor da acetilcolina

(e nicotina), está virada para o meio extracelular junto com o c-terminal (carboxi-terminal). Esse, seguido por três segmentos transmembranares (M1-M3), forma uma grande parede iônica. Por fim, um quarto segmento (M4) é localizado em uma grande porção intracelular transmembranar (Corringer et al., 2000; Improgo et al., 2010; Karlin, 2002) (Fig. 12).

Fig. 12

Domínios de uma Subunidade do Receptor Nicotínico



Nota. Encontram-se, nesse exemplo, o amino-terminal (N), o carboxi-terminal (C), os segmentos transmembranares (M1-M4) e a alça intracelular. Adaptada de: Improgo et al. 2010

Métodos de clonagem molecular revelaram a existência de cromossomos homólogos que apareceram a partir de um antepassado comum, também codificando subunidades de nAChR do sistema nervoso em animais (Conti-Tronconi & Raftery, 1982; Dani, 2015). Nove subunidades neuronais foram clonadas em mamíferos (Albuquerque et al., 2009). As seis subunidades com duas cisteínas (aminoácidos) adjacentes, importantes para a ligação da acetilcolina e da nicotina, foram denominadas de $\alpha 2$ – $\alpha 7$. As outras foram nomeadas de $\alpha 1$ – $\alpha 3$ e $\beta 2$ – $\beta 4$. Nos seres humanos, o tamanho das subunidades varia de 457 aminoácidos ($\alpha 1$) até 627 aminoácidos ($\alpha 4$). A identidade geral da sequência entre

subunidades humanas varia de 36,3% ($\alpha 7 / \beta 3$) a 72,4% ($\alpha 2 / \alpha 4$), que é um número bastante alto e reflete a função e importância dessas específicas dentro da família de nAChRs (Akaike et al., 2018).

É preciso destacar que a conservação da sequência não é uniforme ao longo da subunidade. Por exemplo, a porção citoplasmática é altamente variável, enquanto que a porção extracelular (n-terminal) é altamente conservadora. Isso reflete o comportamento celular das subunidades dos nAChRs. Diferenças na quantidade de aminoácidos ou na variação gênica implicam associações específicas com a plasticidade sináptica, memória, ação neuroprotetora e até mesmo em regiões do processamento visual (Marriott et al., 2005; Metherate, 2004; Placzek et al., 2009; Terry & Callahan, 2018).

Algumas subunidades, definidas com base nas sequências de proteínas e na estrutura dos genes (posições de íntrons, ou sequências de nucleotídeos, na codificação), estão de acordo com os grupos de receptores definidos (por características bioquímicas, farmacológicas ou cinéticas) (Jiao et al., 2019). Isso indica que a combinação de subunidades nos receptores apresenta um número limitado e de regras precisas para seus respectivos funcionamentos.

Em neurônios, dois subgrupos de subunidades foram identificados: a subunidade $\alpha 7$ forma receptores altamente permeáveis ao cálcio e rapidamente dessensibilizados. Essa subunidade tem grande influência na transmissão glutamatérgica, GABAérgica e dopaminérgica, por exemplo, podendo modular aspectos sensoriais e mnemônicos (Maex et al., 2014; Yan et al., 2018). Por outro lado, os receptores contendo as subunidades $\alpha 2$ – $\alpha 6$ e $\alpha 2$ – $\alpha 4$ sempre irão formar receptores heterômeros com divergências na permeabilidade aos íons. Isso pode levar a uma diferença nas respostas celulares e,

inclusive, facilitar a sensibilização à nicotina (Yan et al., 2018). A estrutura molecular será melhor detalhada a seguir.

2.4 Mecanismos Moleculares da Nicotina: Uma Visão Geral

Os nAChRs, sendo moléculas transmembranares, têm sua estrutura em escala atômica ainda desconhecida (a rodopsina é, atualmente, a única proteína transmembranar cuja estrutura foi determinada em alta resolução, devido às condições muito específicas que não são aplicáveis a outros tipos de proteínas ou receptores) (Changeux, 2018).

2.4.1 A Estrutura do Pentâmero

A estrutura dos nAChRs foi inicialmente determinada por microscopia eletrônica ou por cristais bidimensionais (Albuquerque et al., 2009). De modo geral, os nAChRs são compostos por cinco subunidades organizadas em torno de um eixo de pseudossimétrico perpendicular à membrana celular (ver Fig. 12).

2.4.2 A Estrutura do Ligante

Os sítios de ligação para agonistas estão localizados entre duas subunidades adjacentes e são formados por dois componentes. O componente principal é transportado pelas subunidades α (exceto $\alpha 5$, cuja nomenclatura deriva ao conjunto de cisteínas adjacentes). A primeira consequência desse arranjo é que uma subunidade (por exemplo, $\alpha 7$) pode participar em vários sítios de ligação. Isso também ocorre para os receptores de GABA-A, homólogos de nAChRs, em que a subunidade está envolvida ao mesmo tempo nos sítios de ligação de GABA por seu componente complementar, voltado para a subunidade β , e o sítio de ligação da benzodiazepina por seu componente principal, e voltado para a subunidade γ . Esse mecanismo de ligação pode explicar a potenciação dos nAChRs sob algumas condições (e.g., ingestão de fármacos) e como os nAChRs estão

interligados com a modulação de vários neurotransmissores (Changeux, 2012). De modo geral, existe um grande número de receptores com sensibilidades variáveis à nicotina que produzem respostas totalmente diferentes.

2.4.3 Uma Proteína Transmembranar

A parede iônica dos nAChRs é formada, principalmente, pelos segundos segmentos transmembranares de cada subunidade. Isso indica que esses aminoácidos (M1-M2) estão implicados na potência do canal nicotínico, atuando nos estados de repouso e atuação (Changeux, 2018; Corringer et al., 2000). A análise precisa desses segmentos tem ajudado a destacar os nAChRs como sendo uma estrutura em camadas, ajudando a determinar a seletividade iônica, bem como a localização das “portas” de ativação e dessensibilização (Corringer et al., 2000). A principal implicação de entender as proteínas transmembranares de um nAChR é poder reiterar que esses receptores têm expressão bastante diferentes de outros receptores existentes no encéfalo (e.g., receptores serotoninérgicos) e podem exercer grande influência em outros neurotransmissores.

2.5 Estrutura Alostérica dos Receptores Nicotínicos

Existem três tipos de estados estruturais dos nAChRs: basal (ou de repouso), ativo (ou aberto) e dessensibilizado (Changeux, 2018). O ligante do receptor irá estabilizar o estado para o qual tem maior afinidade. Assim, a ligação de agonistas, por exemplo nicotina, fará com que esse una-se ao receptor e cause mudança alostérica (e.g., abertura do canal, pelo menos temporariamente) e com que a entrada de íons ocorra mais rapidamente. No entanto, as estabilidades relativas dos diferentes estados é variável, o que é explicado pela dessensibilização do receptor após alta quantidade de nicotina no terminal sináptico ou no neurônio pós-sináptico, por exemplo (Changeux, 2018).

Como mencionado, quando associada ao tabagismo, a concentração de nicotina será mais forte do que a neurotransmissão “normal” da acetilcolina (i.e., neurotransmissão endógena) no organismo. Então, em algumas situações, a nicotina não irá atuar mimetizando a acetilcolina, mas causar dessensibilização dos receptores. A principal implicação é de que a dessensibilização traz a necessidade de mais receptores para responder à quantidade de nicotina que ficará disponível no organismo. Então, a afinidade do receptor para a nicotina é geralmente mais forte do que para a acetilcolina (Dani, 2015b).

2.6 A Modulação de Outros Neurotransmissores a Partir da Nicotina

A ativação dos nAChRs através da nicotina afeta as células neuronais por meio de dois mecanismos diferentes: despolarização da membrana plasmática, propagando o potencial excitatório pós-sináptico; e modulação da atividade de outros canais celulares e segundos mensageiros por meio da entrada abrupta de cálcio nos nAChRs (Albuquerque et al., 2009; Vernino et al., 1992). No sistema nervoso central, essas respostas sinápticas causadas pela nicotina (mimetizando a ação colinérgica) terão influência em regiões como tálamo, amígdala, córtex visual e, em uma das áreas de projeção dopaminérgica, a *substantia nigra pars compacta*. Ademais, a entrada abrupta de cálcio causa modulação na combinação de subunidades α/β . Um dos exemplos clássicos do excesso de cálcio em uma célula é a apoptose desta (Giorgi et al., 2012; Rizzuto et al., 2003). Apenas para ilustrar, a expressão da subunidade $\alpha 7$ em fotorreceptores (considerando baixos níveis de contraste) pode ajudar na transmissão da informação que parte de algumas células retinianas (ver Capítulo 1) e evitar a degeneração que pode ser causada pelo excesso de cálcio no nervo ótico.

Os efeitos fisiológicos da acetilcolina no sistema nervoso central aparecem, principalmente, devido à ativação não sináptica dos nAChRs. Os nAChRs são observados em diversas regiões dos neurônios (Zoli et al., 2018). Isto é, eles estão além dos dendritos ou do corpo celular. Os nAChRs estão presentes em locais de liberação de neurotransmissores e nos terminais axonais. O aumento na liberação de neurotransmissor ocorre, em parte, devido à despolarização da membrana plasmática provocada pela entrada de nicotina. Por exemplo, nos terminais dopaminérgicos no estriado, a nicotina aumenta a liberação de dopamina por meio da ativação de canais de cálcio dependentes de voltagem (Dani, 2015b; Zenisek & Matthews, 1998). A relação dos nAChRs com o cálcio talvez seja a que melhor explica a modulação de outros neurotransmissores. Os nAChRs são altamente permeáveis ao cálcio, e essa permeabilidade também altera o funcionamento de outros receptores heteroméricos (Vernino et al., 1992).

Algumas estruturas cerebrais apresentam particularidades em relação aos nAChRs. Neurônios expressam essas estruturas e, além disso, um grande número de diferentes subunidades. A maioria das subunidades é expressa na retina, especialmente nas células ganglionares (Hoover & Goldman, 1992). Os nAChRs estão localizados na retina, como também no colículo superior (Henley et al., 1986), no NGL (Han et al., 2003), no tálamo e na glândula pineal (Albuquerque et al., 2009; Zoli et al., 2018). Uma área particularmente importante no contexto dos efeitos de administração de nicotina é a área postrema (ou zona quimiorreceptora). Essa estrutura está envolvida nos mecanismos eméticos, e a sua alta densidade de ligantes nicotínicos participa no desencadear de náuseas provocadas por nicotina (Changeux, 2018; Laffan & Borison, 1957).

De modo geral, a diversidade dos efeitos observados de nicotina no organismo reflete a complexidade do substrato neurobiológico. Há um grande número de nAChRs,

com características neuropsicofarmacológicas variadas. Os receptores estão orientados em diferentes compartimentos das membranas dos neurônios. É importante mencionar que há uma grande diferença entre os efeitos agudos, crônicos e sua relação com a tolerância.

2.7 Nicotina, Tolerância e Vício: Sempre Correlatos?

A nicotina atinge muito rapidamente vários órgãos e, em particular, o encéfalo. Os efeitos da nicotina no sistema dopaminérgico são descritos como um elemento importante no sistema de recompensa em animais e humanos (Damsma et al., 1989). A presença dos nAChRs nos corpos celulares dos neurônios dopaminérgicos da área tegmental ventral e em suas terminações no núcleo *accumbens* podem contribuir para o reforçamento do sistema de recompensa (Balfour & Munafò, 2015; Damsma et al., 1989). Isto é, modulações da liberação de dopamina induzidas pela nicotina levam à manutenção da autoadministração do cigarro, contribuindo tanto para o fortalecimento quanto para evitar o fortalecimento negativo (anedonia ou disforia) induzido pela abstinência (Balfour & Munafò, 2015).

A nicotina não é o único componente do cigarro que pode interferir no mecanismo de dependência, e outros fatores como os efeitos sensoriais provavelmente estão envolvidos (Fernandes et al., 2018). As propriedades dos receptores nicotínicos também são importantes a serem levadas em consideração, pois ajudam a entender melhor o vício, a tolerância ou os efeitos benéficos no organismo (Benowitz, 1988). De modo geral, nem toda modulação causada pela nicotina irá afetar o organismo negativamente. E como isso pode estar relacionado com o organismo; mais especificamente, como a nicotina pode estar relacionada com o SV?

Capítulo 3 – Efeitos da Nicotina no Processamento Visual

3. Tabagismo, Nicotina e suas Relações com o Contraste Visual

3.1 Noções Introdutórias Acerca da Temática

O cigarro contém inúmeros componentes prejudiciais à saúde, e a nicotina é apenas um desses. O uso crônico do cigarro é, provavelmente, a fonte mais significativa de exposição a substâncias químicas tóxicas para os seres humanos. Dados da Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization* – WHO) hipotetizam que, até 203, o cigarro poderá matar quase nove milhões de pessoas por ano em todo o mundo (WHO, 2015).

O uso crônico de cigarro está ligado à incidência de prejuízos fisiológicos (Ambrose & Barua, 2004) e cerebrais (Karama et al., 2015). Alguns deles podem ser doenças cardiovasculares, como doenças cardíacas coronárias, doenças cerebrovasculares (acidente vascular encefálicos, ataques isquêmicos transientes) e doenças vasculares (aneurisma da aorta e aterosclerose), além de ser a causa primária da doença obstrutiva pulmonar crônica (Pauwels et al., 1999). Por outro lado, o uso crônico de cigarro também é associado à surdez (Cruickshanks et al., 1998), degeneração macular (Velilla et al., 2013), prejuízos atencionais (Bashir et al., 2017), emocionais (Leventhal e Zvolensky, 2015) e outros prejuízos envolvendo vias subcorticais (Fernandes et al., 2018) e corticais (Chamberlain et al., 2012).

Por outro lado, a nicotina, devido à sua ação no sistema colinérgico, apresenta alguns aspectos positivos em determinados domínios cognitivos como memória operacional e funções executivas (Valentine & Sofuoglu, 2018) e também é considerada como agente neuroprotetiva para condições como Doença de *Parkinson* e Doença de *Alzheimer* (Akaike et al., 2018; Iwamoto et al., 2013; Quik et al., 2012).

A literatura acerca dos efeitos da nicotina no processamento visual é bastante escassa. Para que possamos contemplar os estudos que trataram da temática é necessário fazer uma breve revisão sobre a ação ou influência do tabagismo no processamento visual. Acreditamos que esse tipo de abordagem possa facilitar a discussão posterior acerca da ação da nicotina em vias visuais e construção do racional teórico do presente trabalho.

3.2 Prejuízos Visuais Relacionados ao Tabagismo

3.2.1 *Degeneração Macular*

A degeneração macular é uma das primeiras causas de cegueira em determinadas condições que afetam a visão (Ammar et al., 2020). É caracterizada por ser um distúrbio progressivo que afeta regiões centrais da retina com dois estágios distintos: (1) estágio inicial, em que os prejuízos visuais ocorrem no fundo do olho, porém de forma pouco sintomática; e (2) estágio avançado, considerado por uma atrofia não tratável ou tratável (quando há possibilidade do uso de medicamentos antiangiogênicos). A degeneração macular, no tabagismo, tem um maior risco com o aumento da idade do paciente e, principalmente, com a predisposição genética desse (Ammar et al., 2020; Sergejeva et al., 2016). Acredita-se que a conversão de um prejuízo visual para a degeneração macular é cerca de quatro vezes maior, dependendo da quantidade de cigarros que são utilizados (Ammar et al., 2020; Velilla et al., 2013).

3.2.2 *Catarata*

A catarata é a primeira causa de cegueira relacionada a distúrbios que afetam a visão e que estão relacionados ao tabagismo (Cheng et al., 2000; Lindblad et al., 2014). Geralmente associada à idade, é caracterizada por uma opacidade no cristalino, sendo, frequentemente, operável e com resultados satisfatórios. No entanto, quando associada ao

uso do cigarro, a catarata apresenta grande risco de cegueira e tem sua prevalência aumentada em fumantes de acordo com a proporção do consumo e tempo em que passaram fumando (Cheng et al., 2000; Lindblad et al., 2014).

3.2.3 Glaucoma

O glaucoma é a segunda maior causa de cegueira relacionada a distúrbios que afetam à visão e que estão relacionados ao tabagismo (Pérez-de-Arcelus et al., 2017). É caracterizada como uma neuropatia ótica crônica com comprometimento do nervo ótico (e campo visual) e associada à hipertonia ocular. Estudos não apontam, geralmente, relação entre ex-fumantes e tabagismo passivo e desenvolvimento de glaucoma (Wang et al., 2012). No entanto, existe uma forte associação entre o uso do cigarro e o desenvolvimento da doença, principalmente considerando o tempo de uso e a quantidade de cigarros utilizado ao longo da vida.

3.2.4 Outras Neuropatias

Ocorrem afetando o nervo ótico e a progressão do impulso ou informação visual até o córtex visual. Uma das mais conhecidas é a neuropatia hereditária de *Leber* (Poincenot et al., 2020), que ocorre por mutação do DNA mitocondrial (Karaarslan, 2019), envolvendo tipicamente mais adultos jovens e afetando fumantes e ex-fumantes (Cullom et al., 1993; Karaarslan, 2019). Outras neuropatias óticas estão relacionadas à “alimentação” decorrente do fluxo sanguíneo o qual envolve as vias visuais (e.g., neuropatia ótica isquêmica), e todas têm alta relação com a quantidade de cigarros utilizados e com o tempo de uso.

3.2.5 Sensibilidade ao Contraste Visual Acromático

Estudos mostram que fumantes têm diminuição na sensibilidade ao contraste visual para um amplo espectro de frequências espaciais (ver Capítulo 1) que vão de baixas e

médias até altas (Fernandes et al., 2018) e frequências temporais (El-Shazly et al., 2017). Em geral, o prejuízo visual relacionado à sensibilidade ao contraste está associado ao funcionamento das vias de processamento visuais magnocelulares, coniocelulares e parvocelulares. No entanto, estudos também têm mostrado que prejuízos óticos relacionados puramente à acuidade visual (Türkcü et al., 2014) já podem ser observados em adultos jovens.

Especula-se que a associação entre tabagismo e prejuízo na sensibilidade ao contraste visual está relacionada com o influxo dos inúmeros componentes prejudiciais existentes no cigarro como o cádmio, por exemplo, uma substância cancerígena (Ganguly et al., 2018). A entrada de substâncias existentes do cigarro na corrente sanguínea ocorre rapidamente devido ao seu uso. Por ser tragado, o influxo dessas substâncias alcança rapidamente regiões importantes do sistema nervoso (ver Capítulo 1) e são de mesmo modo distribuídas ao longo do corpo.

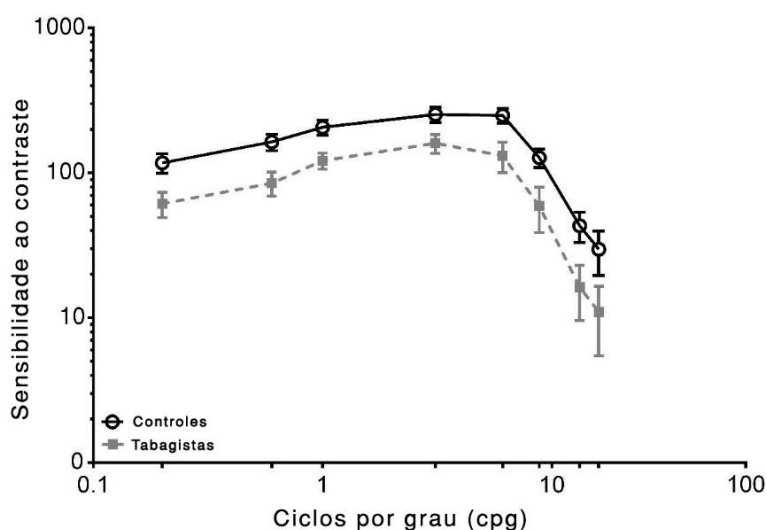
É preciso mencionar que o pleno funcionamento e interpretação das vias de processamento (magno-, conio- e parvocelulares) são dependentes das condições de luminância (e.g., condição fotópica) (Ahmadi et al., 2015). No entanto, para fins didáticos, autores têm utilizado essas classificações para demonstrar como essas vias são responsáveis por transmitir informações específicas da retina para o córtex visual, principalmente considerando os papéis específicos de cones e bastonetes (Ahmadi et al., 2015; Yoonessi & Yoonessi, 2011). Autores têm apontado que a alteração na concentração de neurotransmissores como dopamina, acetilcolina ou glutamato (Fernandes et al., 2018), decorrentes do tabagismo, podem ser responsáveis pela diminuição na sensibilidade ao contraste. Por exemplo, uma diminuição no funcionamento dopaminérgico pode aumentar o antagonismo entre centro e periferia dos campos receptivos das células bipolares (o

oposto também ocorre). Com isso, sob condições fotópicas, por exemplo, os receptores dopaminérgicos (principalmente os receptores de classe D₁-D₅) afetam o tamanho do campo receptivo e, conseqüentemente, o processamento de frequências espaciais e temporais (Fernandes et al., 2019).

Utilizando procedimentos robustos e mundialmente utilizados como a FSC com método da escada e escolha forçada com duas alternativas espaciais (em que o participante precisa indicar se o estímulo é apresentado à direita ou à esquerda do monitor) (Fernandes et al., 2019), pesquisadores obtiveram resultados consistentes que indicaram que o tabagismo afeta a visão para frequências baixas, intermediárias e altas (Fig. 13). Mais pesquisas são necessárias, principalmente multicêntricas, mas esses resultados são consistentes com outros achados e pesquisas que visaram replicar achados prévios (Erdem et al., 2015; Kunchulia et al., 2014).

Fig. 13

Curvas de Sensibilidade ao Contraste para Controles e Tabagistas



Nota. As curvas representam a recíproca do limiar de contraste e as barras de erro representam o erro-padrão da média. Adaptada de Fernandes et al. (2019).

3.2.6 Sensibilidade ao Contraste Visual Cromático

Estudos que investigaram perdas visuais relacionadas ao tabagismo iniciaram com a premissa de Nork (2000). Isto é, seria possível que perdas adquiridas no eixo azul-amarelo progredissem para perdas no eixo verde-vermelho. Assim, esperava-se que seria observada, inicialmente, uma perda do eixo azul-amarelo, que progredisse conforme tempo de uso ou quantidade de cigarros utilizados (Arda et al., 2015). No entanto, os estudos iniciais investigando a relação entre visão de cores e tabagismo já observaram perdas gerais para os eixos azul-amarelo e verde-vermelho (Arda et al., 2015; Fernandes et al., 2017), indicando que essa progressão ocorreu independentemente do tipo ou intensidade dessa perda visual.

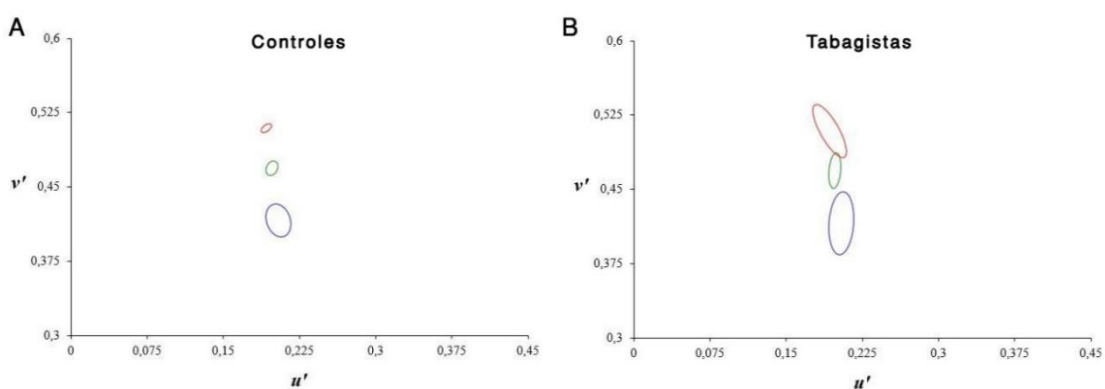
Como mencionado no Capítulo 1, a visão “normal” ou tricromata é baseada na atividade e integração dos cones sensíveis aos comprimentos de ondas curtos, médios e longos. Componentes como monóxido de carbono, tolueno e cádmio (Talhout et al., 2011) podem afetar diretamente o funcionamento dos cones (Fernandes et al., 2017). Apesar de não existirem evidências da seletividade de determinados canais (i.e., um canal, o responsável pelo azul-amarelo, ser mais prejudicado do que o outro), os resultados indicam um prejuízo geral envolvendo os três cones e os três sistemas de cores (azul-amarelo, verde-vermelho, branco-preto). É difícil segregar os sinais dos cones de tabagistas, uma vez que as combinações de sinais aditivos ou oponentes [e.g., (L+M, L-M, e S-(L+M))] não podem ser estudadas separadamente, pois os componentes dos cigarros também não foram, ainda, estudados separadamente (Fernandes et al., 2020).

Utilizando procedimentos robustos e mundialmente utilizados como o teste de cores de *Cambridge* (CCT), com método da escada e escolha forçada com quatro alternativas (em que o participante precisa indicar se o estímulo é apresentado em um dos

quatro pontos cardinais no monitor) (Fernandes et al., 2017), pesquisadores obtiveram resultados consistentes que indicaram que o tabagismo afeta a visão para os três comprimentos de ondas (Fig. 14). Mais pesquisas são necessárias, principalmente multicêntricas, mas esses resultados pioneiros fornecem uma boa descrição do funcionamento visual cromático de tabagistas (Arda et al., 2015; Fernandes et al., 2017).

Fig. 14

Áreas das Elipses para Controles e Tabagistas



Nota. Os dados estão plotados no diagrama de cromaticidade CIE 1976 em unidades $u'v'$. Em um espaço acromático (e.g., Elipse 1), a área da Elipse representa a discriminação geral para cor compreendendo os três comprimentos de ondas. Adaptada de Fernandes et al. (2017)

3.3 Relações entre Nicotina e Processamento Visual

Como supracitado, existe uma grande evidência de que o tabagismo afeta o processamento visual. Ainda são precisos mais estudos para delimitar quais aspectos estão relacionados aos componentes que existem nos cigarros ou à nicotina. Os principais objetivos deste capítulo são promover uma breve revisão de como o tabagismo pode afetar fatores óticos e neurais e, de igual modo, como a nicotina pode interagir com essas mesmas estruturas e vias visuais.

A interação da nicotina com os nAChRs se dá por meio de um processo de despolarização, no qual há liberação de neurotransmissores (sendo as monoaminas as mais comuns; ver Capítulo 2) (Dani, 2015). Dessa feita, parece ser simples traçar um paralelo: uma exposição aguda à nicotina irá produzir um efeito a curto prazo por meio da liberação de neurotransmissores, enquanto uma exposição crônica irá levar a uma alça negativa nessa neurotransmissão (Metherate, 2004). A problemática envolvendo a nicotina e os mecanismos visuais depende mais dos subtipos ou subunidades dos receptores do que da intensidade ou exposição à substância (Paterson & Nordberg, 2000). Até o presente momento, pouco se sabe sobre a expressão das diversas subunidades em cada uma das regiões de processamento visual.

Conforme foi discutido, a retina pode ser classificada em, pelo menos, quatro grupos celulares ou camadas: fotorreceptores, plexiforme interna, plexiforme externa e camada das células ganglionares. Nos fotorreceptores, há uma combinação de subtipos homoméricos e heteroméricos de nAChRs em cones (por exemplo, as subunidades $\alpha 2-\alpha 7$), bastonetes (por exemplo, subunidades $\alpha 4\beta 2$) e em células ganglionares intrinsecamente fotossensíveis (por exemplo, as subunidades $\beta 2$). A troca de informações decorrentes da camada plexiforme externa contribui para dois principais aspectos: a detecção de objetos com altos níveis de contraste em relação ao fundo e a detecção de objetos com baixos níveis de contraste em relação ao fundo (Kolb, 1995). É nessa camada onde se encontram a maior parte das células retinianas que irão projetar as informações para o córtex (entre 80% e 90% dos axônios das células ganglionares irão alcançar o NGL e o V1) (Weyand, 2016). Na camada plexiforme interna, existem células ganglionares e células amácrinas que recebem informações dos fotorreceptores (Kolb & Famigilietti, 1974). Essas trocas de

informações podem ir das células amácrinas para os dendritos das células ganglionares, e das células amácrinas para os axônios das células bipolares.

Os receptores nicotínicos que existem nessas duas camadas são responsáveis pela expressão e liberação de neurotransmissores como GABA, glutamato e dopamina (Iwamoto et al., 2013). No interior da camada das células ganglionares, há expressão da maioria dos subtipos de nAChRs (de $\alpha 2$ – $\alpha 8$ e de $\beta 2$ – $\beta 4$). A existência de nAChRs nessas áreas apresenta maior heterogeneidade do que nas demais regiões. Subtipos de nAChRs em células horizontais (por exemplo, $\alpha 7$ – $\alpha 8$), células ganglionares (por exemplo, $\alpha 2$ – $\alpha 7$, $\alpha 8$ e $\beta 2$ – $\beta 3$), células bipolares (por exemplo, $\alpha 3$ e $\alpha 8$) e células amácrinas (combinação α/β) são expressos de acordo com a neurotransmissão e/ou função dessas células retinianas (Govind et al., 2009). Pouco se sabe sobre os papéis específicos de cada subunidade; contudo, os neurônios e as células dessas vias visuais (e.g., dorsal e ventral) respondem a estímulos relacionados à orientação, frequências espaciais e temporais, comprimento, movimento, cores e profundidade (Kauffmann et al., 2014).

Os receptores nicotínicos na circuitaria retiniana ainda precisam ser melhor entendidos. Existem evidências de que os nAChRs (principalmente as subunidades $\alpha 2$ – $\alpha 7$ e $\beta 2$ – $\beta 3$) homoméricos e heteroméricos têm alta afinidade aos cones e bastonetes. A expressão dos nAChRs que ocorrem nas células retinianas podem ocorrer em dendritos, axônios e corpos celulares (e.g., células horizontais, bipolares e amácrinas). Mais informações podem ser observadas com detalhes em Fernandes et al. (2020b). A combinação de subunidades α/β também existe nas células ganglionares intrinsecamente fotossensíveis e nos dendritos das células ganglionares (Dani, 2015a; Govind et al., 2009).

Como essa circuitaria é bastante complexa, e dependente de camadas e estruturas, praticamente todas as subunidades estão presentes na retina. A informação visual que

segue da retina para o NGL também percorre vias que contêm expressão de subunidades nicotínicas. As três vias que são projetadas da retina ao NGL possuem subunidades nicotínicas como $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 5$ e $\alpha 7$. Isso indica que, praticamente, toda informação envolvendo informação luminosa (e.g., detalhes finos, diferenças de contrastes ou informações complexas cromáticas) é processada pela expressão das subunidades dos nAChRs (Changeux, 2018). A via parvocelular, que transmite informação tanto de detalhes finos quanto de informação cromática baseada nas repostas dos cones médios, é uma das que contêm a maior quantidade de nAChRs (Govind et al., 2009). A via magnocelular, que transmite informação de contraste de luminância com baixos níveis de contraste, apresenta alta expressão de subunidades $\alpha 2$ – $\alpha 5$. Por fim, a via coniocelular transmite informação cromática baseada nas respostas dos cones curtos, mas também da integração das respostas dos cones médios e longos; por isso acredita-se que, por sua distribuição anatômica, também contém expressão da maior parte das subunidades de receptores nicotínicos. De modo breve, como os nAChRs estão presentes na via visual, tanto a cor quanto a percepção do contraste podem ser afetadas pela nicotina seja para estímulos isoluminantes ou isocromáticos (Kauffmann et al., 2014).

3.3.1 Efeitos da Goma de Nicotina no Processamento Visual

Os efeitos da nicotina no processamento visual não são completamente conhecidos. Mais especificamente, os efeitos da administração da goma de nicotina na visão ainda são escassos. Até a presente data, apenas três estudos investigaram a relação da administração da goma de nicotina no processamento visual (Naser et al., 2011; Fernandes et al., 2020a; Varghese et al., 2011).

Varghese et al. (2011) investigaram os efeitos da administração da goma de nicotina no eletroretinograma (ERG) de adultos não fumantes. O estudo foi realizado em

10 adultos saudáveis que tiveram administração da goma de nicotina (2-mg ou 4-mg) ou goma placebo por 30 minutos antes de serem testados em dois protocolos diferentes. No primeiro protocolo, a testagem ocorreu sob adaptação ao escuro e adaptação ao claro, enquanto, no segundo protocolo, apenas a testagem sob adaptação ao claro foi utilizada. Para a medida de ERG, os autores utilizaram aplicação do colírio tropicamida a 1% para dilatação dos olhos, cerca de 30 minutos antes da adaptação ao escuro. A linha de base para a amplitude da onda-a e onda-b foi de -1,96 até +2,96 unidades logarítmicas (com acréscimo de ,3 unidades). Para as medidas sob adaptação ao claro, os participantes foram adaptados à luz por 10 minutos utilizando um fundo saturado de 30 cd/m². Em relação ao protocolo dos dois experimentos, a administração da nicotina ocorreu com espaço de uma semana para cada protocolo (ambos foram contrabalanceados).

Para o protocolo 1: os participantes foram testados utilizando a goma placebo e goma contendo 2-mg ou 4-mg em duas ocasiões diferentes. As gomas foram administradas durante os 30 minutos de adaptação ao escuro e jogadas fora antes da testagem. As condições foram similares para o protocolo 2, exceto que os participantes não foram adaptados ao escuro, mas ao claro por 10 minutos. A goma foi administrada por 30 minutos antes do registro do ERG e jogada fora antes da testagem.

O ERG é, igual à FSC, uma medida não invasiva para avaliar o funcionamento da retina. Conforme abordaram em seu estudo, Varghese et al. (2011) observaram a ação da nicotina nas respostas das atividades das ondas “a” e “b”. A onda-a (*a-wave*) pode ser caracterizada como a medida da resposta do fotorreceptor, enquanto a onda-b (*b-wave*) pode ser refletida por meio das mudanças de células das células retinianas como bipolares ou células de *Müller*, células da glia, amácrinas ou células ganglionares. De modo geral, a acetilcolina pode modular a liberação de dopamina. Assim, o aumento de dopamina

retiniana pode aumentar as amplitudes das ondas-b, por exemplo, principalmente para condições fotópicas. Isso explica, em parte, os resultados obtidos no estudo.

Para a condição de adaptação ao escuro, as amplitudes das ondas-a e ondas-b não apresentaram diferenças. No entanto, quando as amplitudes das ondas-b foram normalizadas (de acordo com a equação *Naka-Rushton*), houve diferenças entre placebo, 2-mg ($p < ,01$) e 4-mg ($p < ,01$). Para a condição de adaptação ao claro, não houve diferenças para as ondas-a, mas em relação às ondas-b, em que a amplitude mostrou um maior efeito da goma de 4-mg ($p < ,01$; placebo) em relação a de 2-mg ($p > ,05$; placebo). De modo geral, não houve efeito da nicotina nas respostas ou amplitudes das ondas-a, mas diminuição nas amplitudes das ondas-b para a condição de adaptação ao escuro (para 2-mg e 4-mg) e aumento nas amplitudes das ondas-b para a condição de adaptação ao claro (para 4-mg) (Tabela 2).

Tabela 2

Resumo dos Resultados Obtidos no Estudo de Varghese et al. (2011)

Componente do ERG	Resultados
Adaptação ao escuro	
Ondas-a	Não houve diferenças
Ondas-b	Diminuição nas amplitudes para 2-mg e 4-mg de nicotina
Adaptação ao claro	
Ondas-a	Não houve diferenças
Ondas-b	Aumento nas amplitudes para 4-mg de nicotina

Naser et al. (2011) investigaram os efeitos da administração da goma de nicotina na visão de cores de não fumantes. Eles utilizaram gomas contendo 2-mg ou 4-mg em dois

adultos de 24 e 25 anos que passaram por três diferentes sessões: (1) sem nicotina; (2) com 2-mg de nicotina; (3) com 4-mg de nicotina. Os autores utilizaram o teste de arranjo *Farnsworth-Munsell* (FM-100) (Kinnear & Sahraie, 2002) e o *Red Test* (York & Loop, 2008). O FM-100 foi utilizado após 30 minutos mascando a goma, e o *Red Test* foi administrado em três intervalos de 10 minutos, enquanto o participante mascava a goma. O erro total (*Total Error Score - TES*) para o FM-100 foi menor para as condições de nicotina, sendo mais observável para dose de 4-mg. De igual modo, os limiares para o *Red Test* foram diferentes, sendo menores após 30 minutos mascando a goma de 4-mg para a condição de luz branca ($p < ,05$), porém mais evidentes para a condição de luz vermelha ($p < ,001$) (Tabela 3).

Tabela 3

Resumo dos Resultados Obtidos no Estudo de Naser et al. (2011).

Testes	Resultados
FM-100	
2-mg	Cerca de 1,5x diferente em relação ao <i>baseline</i>
4-mg	Cerca de 2,1x diferente em relação ao <i>baseline</i> e 1,4x em relação à 2-mg
Red-Test	
2-mg	Não houve diferenças
4-mg	Limiares menores cerca de 1,2x em relação ao para a luz branca e 1,7x para a luz vermelha

Os testes utilizados por Naser et al. (2011) são conhecidos. O FM-100 é um teste amplamente conhecido para discriminação cromática. É um teste de arranjo que contém pastilhas (ou peças plásticas) que variam em matiz, mas mantém brilho e saturação

constante (Almustanyir et al., 2020). As pastilhas são divididas em quatro caixas, cada uma cobrando um quarto do espaço de cores, e a tarefa do participante é organizá-las de acordo com a forma natural de sua percepção (e.g., de acordo com os incrementos na tonalidade) (Kinnear & Sahraie, 2002). Por exemplo, pessoas saudáveis tendem a organizar em ordem crescente sem sobrepor as pastilhas. Pessoas com prejuízos no funcionamento dos cones médios ou longos, por exemplo, podem substituir as pastilhas (e.g., substituir a 13 e a 55 por 33 e 75) (Kinnear e Sahraie, 2002). O *Red Test* (York & Loop, 2008) é um teste que mensura o limiar para uma luz estacionária (de 2 cm, geralmente) que aumenta de acordo com a intensidade de um fundo branco (no estado de Naser et al. (2011), foi utilizada luminância de 150 cd/m²). De modo geral, as luzes encontram-se em uma caixa de madeira. No fundo dessa caixa, existe um plástico translucido que serve como “tela” para visualização. O método para a obtenção dos limiares geralmente é o do ajuste; ou seja, o participante gira o botão da luz lentamente até aumentar a um nível onde ela (a luz) torna-se minimamente visível (i.e., a menor quantidade que o participante consegue ver). Naser et al. (2011) utilizaram três limiares para formar a média dos limiares das luzes vermelhas e brancas.

Fernandes et al. (2020b) investigaram os efeitos a curto prazo da goma de nicotina na detecção de faces em adultos não fumantes. Eles utilizaram gomas placebo e gomas contendo 2-mg ou 4-mg em um ensaio clínico randomizado. A tarefa utilizada consistiu na detecção de uma face quando aparecia em frente ao monitor lado a lado a algo similar a uma face (face vs. mosaico). Os participantes foram testados após mascarem a goma por 15 minutos, dentro do tempo proposto para o pico de concentração proposto por Russell et al. (1976). O teste dependia das respostas dos participantes, mas não passou de 15 minutos. As variáveis retiradas foram o tempo de reação e o índice de discriminação em relação aos

acertos no teste. Os resultados indicaram que os participantes fazendo uso da goma de 2-mg tiveram melhor desempenho do que os pacientes fazendo uso da goma placebo e da goma de 4-mg. Em contrapartida, participantes fazendo uso da goma de 4-mg tiveram menor desempenho do que todos os demais (Tabela 4).

Tabela 4

Resumo dos Resultados Obtidos no Estudo de Fernandes et al. (2020)

Testes	Resultados
Tempo de reação	
2-mg	Menor tempo comparado ao placebo e a 4-mg
4-mg	Maior tempo comparado ao placebo e a 2-mg
Índice de discriminação	
2-mg	Menor tempo comparado ao placebo e a 4-mg
4-mg	Maior tempo comparado ao placebo e a 2-mg

Apesar de resultados interessantes nos três estudos, eles apresentam algumas limitações. O tempo de adaptação ao escuro de 10 minutos já é suficiente para os cones (Rushton, 1965), o que torna a diferença entre adaptação ao escuro (e.g., 30 minutos) e ao claro (e.g., 10 minutos) desproporcional, como observado no estudo de Varghese et al. (2011). Um longo tempo de testagem, tal como diferenças em sessões, pode afetar a performance do participante e causar alguma condição metodológica desfavorável, assim como abordam Mollon et al. (2017) em seu estudo. Ademais, diferenças no tempo de administração da goma de nicotina nos estudos de Naser et al. (2011) e Varghese et al. (2011) podem ter mascarado o pico de concentração e/ou o tempo requerido para alcançar o pico de concentração plasmática da nicotina (Russell, 1976). É preciso mencionar que

todos os três estudos apresentaram tamanhos amostrais reduzidos (i.e., variando entre, $n = 7$ até $n = 14$), o que pode ter prejudicado a análise estatística paramétrica em Naser et al. (2011) e Varghese et al. (2011) e o poder estatístico e para análise em Fernandes et al. (2020). É importante mencionar que Varghese (2013) ainda realizou um estudo piloto investigando os efeitos da nicotina em frequências temporais e *flicker*, porém as limitações desse piloto são as mesmas supracitadas. Finalmente, mesmo calculando tamanho do efeito, Fernandes et al. (2020) utilizaram um poder de menos de 80%, o que pode ter causado maiores diferenças em relação aos efeitos adversos, uma vez que alguns resultados entre 4-mg e placebo foram quase similares, ainda que diferentes em comparação à condição de 2-mg.

Por fim, mesmo com as devidas limitações, esses três estudos são pioneiros e fundamentais para as primeiras concepções e delineamentos do conhecimento acerca dos efeitos da nicotina no processamento visual inicial. Pesquisas como essas têm desdobramentos importantes, os quais serão destacados a seguir.

Capítulo 4 – Elementos Estruturadores da Pesquisa

4. Justificativa, Hipóteses e Objetivos

4.1 Justificativa da Pesquisa

O cigarro consiste no consumo de inúmeros componentes prejudiciais à saúde, incluindo monóxido de carbono, formaldeído, alcatrão, tolueno e a nicotina. Dentre as fontes de exposição químicas mais tóxicas, o cigarro, provavelmente, é uma das mais significativas destas. Cerca de nove milhões de pessoas podem morrer em decorrência do uso crônico (ou até mesmo passivo) advindo do cigarro (WHO, 2015).

Evidências apontam que o tabagismo pode afetar o processamento visual (Arda et al., 2015; Erdem et al., 2015; Fernandes et al., 2018, 2019; Kunchulia et al., 2014). Entretanto, o cigarro é composto por vários componentes, o que dificulta especificar qual a contribuição de cada um destes nos prejuízos sensoriais e perceptuais. Neste sentido, é importante estudar os efeitos de cada elemento isoladamente e, em particular, a nicotina, uma vez que: (i) trata-se de um dos principais componentes do cigarro; (ii) seus efeitos isolados em indivíduos não fumantes ainda são pouco conhecidos (Naser et al., 2011; Fernandes et al., 2020; Varghese et al., 2011); (iii) é uma substância que pode ser utilizada como agente neuroprotetivo em transtornos neurodegenerativos como na Doença de *Parkinson* (Quik et al., 2012).

É importante, ainda, mencionar que existem outras formas de administração da nicotina. Os métodos de administração de nicotina (que geralmente são utilizados na terapia de reposição de nicotina) podem incluir a goma, pastilhas, adesivos transdérmicos, *spray* nasal e inalador (Silagy et al., 2000). No entanto, a goma produz níveis de nicotina no sangue semelhantes aos de fumar cigarros (Russell et al., 1976).

Neste trabalho, a escolha pelo uso de goma de mascar em vez de outras formas de administração de nicotina devido ao baixo custo, rápida absorção (em comparação

aos adesivos transdérmicos), alta biodisponibilidade, fácil consumo, disponibilidade em baixas doses (2-mg e 4-mg) e menos efeitos colaterais que as demais formas (Aslani & Rafiei, 2012; Fagerström et al., 1993).

Esta pesquisa torna-se importante uma vez que tem a possibilidade de compreender os efeitos isolados da nicotina em adultos não fumantes e que ainda não foram pré-expostos ao tabagismo. Ainda, a nicotina pode exercer um papel importante na modulação da transmissão de acetilcolina, podendo facilitar a liberação de outros neurotransmissores e, com isso, agir no fator neurotrófico cerebral. Dessa forma, é possível que o uso da nicotina tenha implicações na remediação de transtornos neurológicos e neurodegenerativos. Assim, estes resultados podem ter alcance além da academia à medida que se procura uma compreensão clínica dos benefícios da nicotina.

Desta feita, o desdobramento desta pesquisa pode contribuir direta ou indiretamente para diferentes áreas e subáreas da neurociência. Esta pesquisa foi realizada em dois estudos: o primeiro estudo investigou a sensibilidade ao contraste acromático, utilizando o *software Metropsis* em adultos não fumantes. Foram utilizadas grades senoidais verticais com frequências espaciais que variaram de 0,2 a 20 cpg. O segundo estudo investigou a discriminação e detecção de cores em adultos não fumantes utilizando o *Cambridge Colour Test (CCT)*. As medidas do CCT foram realizadas utilizando o subteste *Trivector* e o subteste *Ellipse*. Ambos os estudos não foram realizados simultaneamente ou com os mesmos participantes. Durante os próximos tópicos, as hipóteses os objetivos serão apresentados de forma isolada por se tratar de estudos diferentes.

4.2 Hipóteses

Estudo 1 – Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Visual Acromática em Adultos não Fumantes

1. A administração da goma de nicotina influenciará a sensibilidade ao contraste visual acromático em adultos não fumantes (Varghese et al., 2011). Espera-se que:

1a. O uso da goma de nicotina aumente a sensibilidade ao contraste quando comparada à condição placebo;

1b. Essas diferenças ocorrerão para as frequências espaciais baixas, intermediárias e altas em condição fotópica;

2. A alteração na dose da goma de nicotina influenciará a sensibilidade ao contraste em adultos não fumantes (Fernandes et al., 2020; Naser et al., 2011; Varghese et al., 2011). Espera-se que:

2a. Maior quantidade de nicotina proporcionará melhor desempenho para 4-mg do que para 2-mg;

3. Variáveis biossociodemográficas não afetarão o desempenho visual em adultos não fumantes (mesmo considerando que mulheres podem, por exemplo, metabolizar a nicotina mais rápido que os homens) (Benowitz e Hatsukami, 1998; Benowitz et al., 2009; Fernandes et al., 2020). Espera-se que:

3a. Não existam associações entre as variáveis biossociodemográficas como idade, nível de escolaridade, sexo, altura, peso, ou índice de massa corporal nos resultados.

Estudo 2 – Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Visual Cromático em Adultos Não Fumantes

1. A administração da goma de nicotina afetará a discriminação cromática em adultos não fumantes (Naser et al., 2011). Espera-se que:

1a. O uso da goma de nicotina melhorará a sensibilidade aos comprimentos de ondas correspondentes aos vetores Protan (vermelho; L-cones), Deutan (verde; M-cones) e Tritan (azul; S-cones) do subteste *Trivector*;

1b. O uso da goma de nicotina afetará os parâmetros que compõem uma elipse de *MacAdam* (i.e., área, comprimento do eixo maior, ângulo do eixo maior, proporção entre eixos) dentro de um espaço acromático do subteste *Ellipse*;

1c. Essas alterações na discriminação cromática englobarão ambos os espectros amarelo-azul e verde-vermelho;

2. O aumento da dose da goma de nicotina melhorará a discriminação cromática em adultos não fumantes (Naser et al., 2011). Espera-se que:

2a. Maior quantidade de nicotina proporcionará melhor desempenho para 4-mg do que para 2-mg;

3. Variáveis biossociodemográficas não interferem no desempenho visual em adultos não fumantes (mesmo considerando que mulheres podem, por exemplo, metabolizar a nicotina mais rápido que os homens) (Benowitz & Hatsukami, 1998; Benowitz et al., 2009; Fernandes et al., 2020). Espera-se que:

3a. Não existam associações entre as variáveis biossociodemográficas como idade, nível de escolaridade, sexo, altura, peso, ou índice de massa corporal nos resultados.

4.3 Objetivos

Detalhes sobre os objetivos gerais e específicos de cada estudo estão descritos no protocolo *ENIGMA-Vis* (Fernandes et al., 2020).

Estudo 1 – Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Visual Acromático em Adultos não Fumantes

O objetivo geral deste estudo é investigar se alguma das condições (placebo, 2-mg ou 4-mg de nicotina) influencia o desempenho de adultos não fumantes nas medidas de sensibilidade ao contraste, usando a FSC através do *software Metropsis*.

Objetivos específicos:

- (a) Investigar o desempenho visual para frequências espaciais baixas, intermediárias e altas (de 0,2; 1,0; 3,3; 5,7; 8,8; 13,2 e 15,9 cpg) após administração da goma placebo e das gomas de nicotina contendo 2-mg ou 4-mg;
- (b) Avaliar influência da dosagem de nicotina nos resultados da sensibilidade ao contraste para as frequências espaciais baixas, intermediárias e altas (de 0,2 a 15,9 cpg);
- (c) Correlacionar as medidas demográficas e de sensibilidade ao contraste;
- (d) Analisar se o Índice de Massa Corporal pode ser preditor dos resultados da sensibilidade ao contraste;

Estudo 2 – Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Visual Cromático em Adultos Não Fumantes

O objetivo geral deste estudo é investigar se alguma das condições (placebo, 2-mg ou 4-mg de nicotina) influencia o desempenho de adultos não fumantes nas medidas de discriminação de cores, usando os subtestes *Trivector* e *Ellipse* do CCT.

Objetivos específicos:

- (a) Investigar a discriminação de cores para os cones sensíveis aos comprimentos de ondas curtos, médios e longos (azul, verde e vermelho, respectivamente) utilizando as variáveis Protan, Deutan e Tritan do subteste *Trivector*;
- (b) Investigar alterações na posição ou direção de uma elipse de *MacAdam* que se encontra ao longo de um eixo de confusão tritan (i.e., elipses maiores ou mais circulares em um fundo acromático podem indicar menor detecção e

discriminação de cores) utilizando as variáveis área, comprimento do eixo maior, ângulo do eixo maior e proporção entre eixos do subteste *Ellipse*;

- (c) Avaliar influência da dosagem de nicotina nos resultados do subteste *Trivector*;
- (d) Avaliar influência da dosagem de nicotina nos resultados do subteste *Ellipse*;
- (e) Correlacionar as medidas demográficas e de discriminação cromática usando os subtestes *Trivector* e *Ellipse*;
- (f) Analisar se o Índice de Massa Corporal pode ser preditor dos resultados da discriminação cromática;

Capítulo 5 – Da Pesquisa

5. Método Geral

5.1 Informações sobre a Pesquisa

O desenho desta pesquisa, denominada ENIGMA-Vis, foi publicado previamente (Fernandes et al., 2020) e as bases planejadas por este protocolo foram seguidas (disponível em livre acesso; licença *Creative Commons CC BY 4.0*). O objetivo deste capítulo é introduzir ao leitor alguns conceitos gerais utilizados antes da randomização e alocação dos participantes para cada um dos respectivos estudos. Neste capítulo estão descritas as principais características metodológicas que antecedem os estímulos, procedimentos e resultados em separado de cada estudo.

A presente pesquisa seguiu as diretrizes éticas do Conselho Nacional de Saúde (Resolução n. 510/16) e está registrada na Plataforma Brasil (60944816.3.0000.5188).

5.2 Local da Pesquisa

Esta pesquisa foi realizada no Laboratório de Percepção, Neurociências e Comportamento (LPNeC), pertencente ao Departamento de Psicologia, do Centro de Ciências Humanas e Letras da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), *Campus I*. O laboratório está situado na cidade de João Pessoa (Paraíba, Brasil), localizado em 07° 06' 54" S de latitude e 34° 51' 47" W de longitude com uma amplitude de 47 m.

5.3 Desenho Geral da Pesquisa

Como mencionado nas seções anteriores, os estudos que trataram desta temática tiveram algumas limitações que foram fundamentais preencher (Fernandes et al., 2020; Naser et al., 2011; Varghese et al., 2011). Desta feita, a principal consideração deste estudo foi a de realizar um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado com três períodos (i.e., um período caracteriza-se por um bloco de contrabalanceamento das condições, podendo ser placebo, 2-mg ou 4-mg para cada participante) (RBR-

46tjy3) para investigar os efeitos da administração de goma de nicotina na visão (Tabela 5).

Tabela 5

Medidas de Acordo com a Linha de Tempo

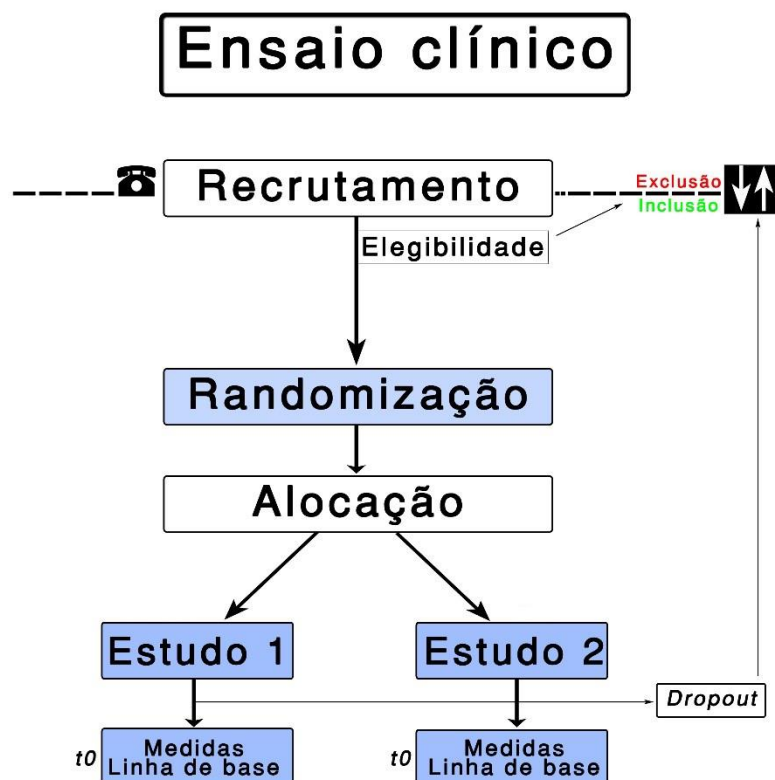
ENIGMA-Vis						
	Recrutamento	Alocação	Testagem		Encerramento	
LINHA DO TEMPO	$-t_1$	t_0	t_1	t_2	t_3	40 semanas
RECRUTAMENTO:						
Triagem	X					
Consentimento	X					
Alocação		X				
INTERVENÇÕES:						
Goma placebo			X	X	X	
Goma de nicotina (2-mg)			X	X	X	
Goma de nicotina (4-mg)			X	X	X	
MEDIDAS:						
Biossociodemográficas	X	X				
Sensibilidade ao contraste acromática ($n = 13$)			X	X	X	
Sensibilidade ao contraste cromática ($n = 21$)			X	X	X	
Análises secundárias			X	X	X	X

Após triagem, os participantes foram randomizados e alocados para cada um dos dois estudos. Um total de 34 participantes foram alocados para os dois estudos (sendo 13 participantes para o Estudo 1, e 21 participantes para o Estudo 2).

No caso de algum *dropout* (i.e., algum dos participantes não pudesse continuar) este seria retirado da amostra; contudo, não houve *dropout*. Após alocados, os participantes realizaram medidas de linhas de base através de questionários sociodemográficos para posterior comparação (Fig. 15).

Fig. 15

Fluxograma Geral da Pesquisa



Nota. Os participantes foram contatados por meios de comunicação e entrevistados, sendo direcionados de acordo com os critérios de elegibilidade. Estando elegíveis, os participantes foram randomizados e alocados para algum dos estudos. Os participantes não fizeram parte dos dois estudos. Após a alocação, o participante realizou as medidas de linha de base (t_0 ou período inicial de pesquisa). No caso de *dropout* (desistência ou interrupção), o participante seria retirado da amostra. No entanto, não houve dropout na presente pesquisa.

O coordenador do estudo utilizou listas para classificar, identificar e separar os membros da equipe de acordo com seus papéis na pesquisa. Isto significa que um grupo de pesquisadores aplicou questionários e fez a anamnese, outro grupo de pesquisadores

separou e realizou a administração da goma, outro grupo de pesquisadores foi responsável pelo cegamento das condições dos participantes e das dosagens das gomas, e outro grupo de pesquisadores foi responsável pela análise dos dados.

5.4 Participantes e Elegibilidade

Participaram adultos saudáveis com idades entre 18 a 40 anos. Estes participantes foram recrutados por telefone, sites, anúncios ou por comunicação pessoal. Após triagem, recrutamento e alocação, os participantes foram designados para cada um dos estudos (Fig. 16). Membros da equipe de pesquisa – que não estavam cientes da condição em que o participante seria alocado e/ou qual condição este receberia – designaram os participantes para os estudos de acordo com os critérios de elegibilidade que são apresentados a seguir.

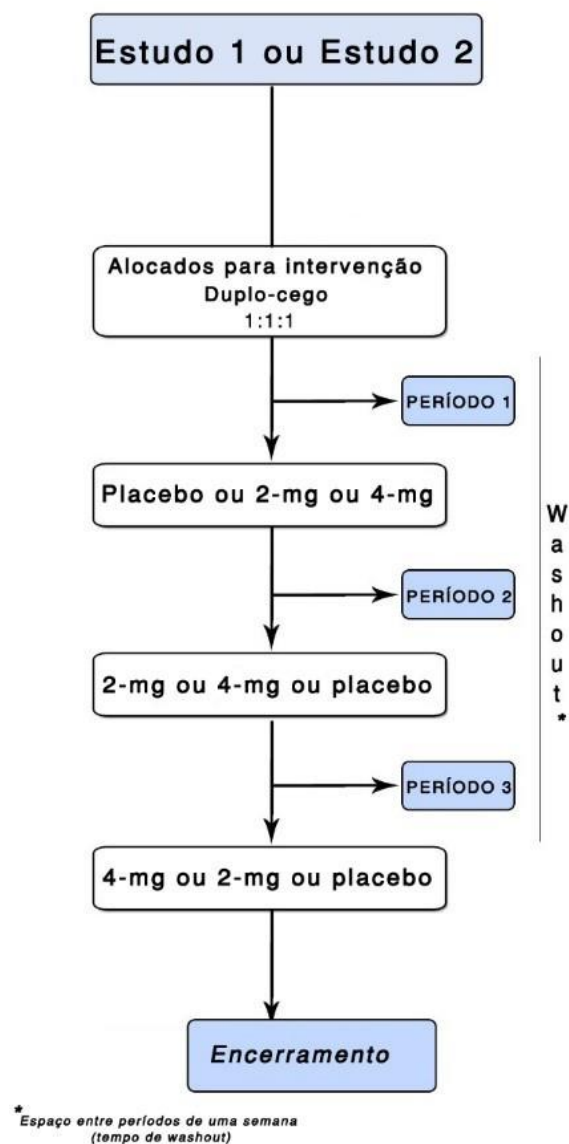
5.4.1 Critérios de Inclusão

Todos os participantes assinaram ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) antes do início do estudo e foram explicados sobre todo o procedimento. Os participantes cumpriram os critérios de não fumantes [i.e., fumaram menos que 15 cigarros durante toda a vida; critério baseado Pomerleau et al. (2004)] de acordo com autorrelatos, e manifestaram sua vontade em participar e cumprir com as visitas agendadas e outros procedimentos do ensaio clínico. Os critérios de inclusão, em geral, foram: (1) apresentar boa saúde dental e capacidade mastigatória normal; (2) estar livre de doenças oftalmológicas e/ou ter sido examinado por algum oftalmologista durante o último ano; (3) apresentar acuidade normal ou corrigida (pelo menos 20/20; ou $\log\text{MAR} \leq 0.0$); (4) não apresentar discromatopsias de acordo com o teste das placas pseudoisocromáticas de *Ishihara* (versão 24 placas) (Ishihara, 1972). Mais do que três erros foram considerados critérios de eliminação no teste de *Ishihara* (Fernandes et al., 2020); (5) abster-se de cafeína ou produtos contendo cafeína por pelo menos seis horas

antes dos procedimentos (conforme requerido pelo fabricante das gomas). No entanto, os participantes não relataram dependência à cafeína ou síndrome de retirada de cafeína durante autorrelatos (corroborando com dados anteriores).

Fig. 16

Diagrama da Condução e Desenvolvimento da Pesquisa



Nota. Os participantes foram alocados para cada um dos estudos e passaram por três condições (placebo, 2-mg ou 4-mg) em intervalos de uma semana cada (também chamados de *washout*) para evitar possibilidade de alguma intercorrência. Os períodos

de testagem foram denominados de t_1 , t_2 e t_3 para facilitar a identificação do banco de dados (ver Tabela 5).

5.4.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo os participantes que apresentaram: (1) < 18 ou > 40 anos idade; (2) histórico de abuso de substâncias, (3) histórico de transtornos neurológicos; (4) histórico de trauma cranioencefálico; (5) doença conhecida do tipo autoimune; (6) alguma síndrome demencial; (7) uso de medicação que afetasse a visão e/ou cognição (e.g., benzodiazepínicos). Dados sobre condições agudas ou clínicas foram obtidas a partir de autorrelatos ou de acordo com medidas já descritas em outros nossos estudos anteriores. Mulheres foram testadas fora da fase lútea (Fernandes et al., 2020). Participantes que tiveram presença em outros ensaios clínicos durante os últimos meses ou que não quisessem, por qualquer motivo, participar da pesquisa foram retirados da amostra. O teste Mini-Exame do Estado Mental (Folstein et al., 1975) foi utilizado para rastreio cognitivo e o ponto de corte para ele foi baseado em ≤ 24 . Informações como o histórico clínico, presença de doenças neurológicas na família ou depressão e ansiedade foram coletadas por outro grupo de pesquisadores através de uma breve anamnese.

5.5 Medidas de Linha de Base

Todas as medidas de linha de base foram realizadas na fase de alocação. Estas medidas incluíram: idade, nível de escolaridade, gênero, altura, peso e índice de massa corporal ($IMC = \frac{peso}{altura^2}$). Para as mulheres, informações sobre o período menstrual e/ou provável gestação foram obtidas.

5.6 Randomização

Os participantes foram randomizados em blocos permutados com a mesma proporção de 1:1:1 (a partir de um gerador aleatório de números disponível

gratuitamente; www.randomizer.org). A alocação seguiu as diretrizes da *Cochrane* (Higgins et al., 2019). O principal propósito do uso da randomização eletrônica é evitar o viés humano na seleção e alocação dos participantes. Ademais, é possível evitar, por exemplo, que existam fatores de confusão como a maior presença de homens em um grupo que em outro. Assim, para evitar ou minimizar isto, este gerador foi utilizado. Todos os participantes foram identificados com suas iniciais por um pesquisador “cego” quanto à condição dos mesmos.

5.7 Cegamento

Conforme mencionado, toda equipe foi designada a uma tarefa específica. Neste sentido, um grupo de pesquisadores foi responsável pela administração da goma de nicotina e um grupo de pesquisadores foi responsável pelo controle e cegamento da dosagem (i.e., eles sabiam qual a dosagem, escolheram-na, mas não informaram a quem iriam aplicar). De todo modo, os participantes foram questionados, ao final do estudo, acerca de qual condição eles acreditaram que participaram em cada período. Isso foi feito para avaliar a eficácia do cegamento proposto. No caso de quebra do cegamento, análises adicionais com e sem os casos cegos seriam realizadas a fim de observar efeito ou interação disto nos resultados. No entanto, tal como discutido adiante, não houve quebra do cegamento.

5.8 Segurança e Aderência

O uso da nicotina em adultos não fumantes foi reportado em alguns estudos (Cook et al., 2003; Naser et al., 2011; Varghese et al., 2011) e os participantes não exibiram grandes desconfortos. No entanto, a nicotina pode ter ação na zona quimiorreceptora, uma estrutura responsável pelos processos eméticos (Changeux, 2018). Considerando que a nicotina também é uma substância vasoativa, a possibilidade de que os participantes pudessem relatar desconfortos como dor de cabeça, tontura,

náusea, sudorese ou formigamento (devido ao mentol) foi considerada. Desta feita, para investigar isto os participantes foram questionados após o final de cada sessão (ou período) se experienciaram sintomas como "dor de cabeça", "enjoo", "náusea", "tontura", entre outros, e perguntados, subsequentemente, sobre a intensidade desta sensação (1 - nenhuma; 2 - leve; 3 - moderada; 4 - forte) e se isso estaria ligado aos efeitos sentidos pela goma de nicotina. Caso algum participante reportasse desconforto, o procedimento seria descontinuado no mesmo instante.

Dropouts foram considerados se: (1) o participante perdesse duas visitas consecutivas; (2) não completasse alguma das sessões; (3) apresentasse algum efeito adverso severo durante o ensaio clínico; e (4) quisesse parar por algum motivo. As estratégias de aderência foram fornecer procedimentos flexíveis (sessões rápidas e alternadas), contato direto com os participantes para confirmar datas de avaliação, triagem e participação, reforçando a aderência. Ademais, foram fornecidos aos participantes traslado e alimentação durante o período de estudo, caso necessário. Medidas adicionais para evitar desistências foram aplicadas, incluindo discussão das dificuldades enfrentadas no estudo (por exemplo, logística em se deslocar ao laboratório), e tentativas para resolver e evitar possíveis problemas que afetem a aderência e continuidade do estudo.

5.9 Intervenção

Esse ensaio clínico segue as diretrizes propostas pelo protocolo do *ENIGMA-Vis* (Fernandes et al., 2020). É importante mencionar que as medidas de sensibilidade ao contraste visual foram realizadas dentro do espaço de tempo relacionado ao pico de concentração plasmática da nicotina (Fernandes et al., 2020; Russell et al., 1976) que ocorrem, geralmente, entre 15 a 40 (± 5) minutos após começar a mascar a goma.

Foram utilizadas duas doses (2-mg e 4-mg) de goma de nicotina (*Nicorette*, *GlaxoSmithKline, Wales*) e uma goma placebo com o mesmo sabor, textura e similaridade à goma de nicotina (e.g., contendo levomentol, óleo de menta etc.) para produzir as mesmas sensações da goma de nicotina, como o formigamento ou leve ardência do mentol. A escolha dessas dosagens foi previamente explicada, mas reitera-se a escolha pelo uso de doses mais baixas inicialmente. Os participantes foram instruídos a mastigar gentilmente a goma durante 15 minutos utilizando a mesma dinâmica muscular. Isto é, os participantes foram encorajados a mastigar a goma mantendo a mesma velocidade e/ou intensidade (apesar de não existir relatos sobre associação entre velocidade, intensidade ou diferenças musculares e a quantidade de nicotina absorvida, optou-se por requerer este controle; para mais detalhes, ver Benowitz et al. 2009).

Os participantes foram permitidos realizar tarefas simples durante o tempo de espera, mas que não exigissem demasiado esforço. Durante todo o procedimento, membros da equipe monitoraram os participantes (sem incomodar) para garantir que mascassem de acordo com as instruções fornecidas.

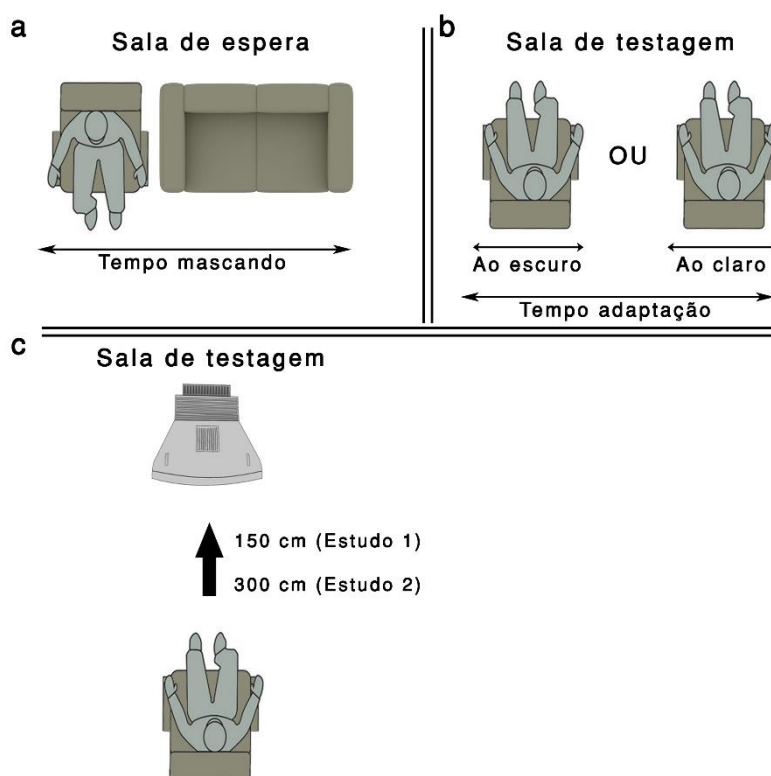
Os protocolos de espera durante a mastigação variaram levemente entre testes. No entanto, um padrão foi mantido *a priori*. Após alguns minutos mascando a goma na sala de espera (Fig. 17a), os participantes foram direcionados até a sala onde foram adaptados ao escuro (por 10 minutos; para realização do CCT) ou ao claro (por três minutos; para realização da FSC) (Fig. 17b) e, em seguida, testados (Fig. 17c).

Até o momento da testagem, os participantes continuaram a mascar a goma até que o tempo de 15 minutos fosse completado (conforme indicado em nosso protocolo, ver Fernandes et al., 2020), assim, garantindo que todos passassem pelo mesmo

processo de adaptação fotópica, entendessem as instruções e seguissem a mesma esquemática (Fig. 17).

Fig. 17

Esquema de Representação das Etapas do Estudo



Nota. Os participantes ficavam mascarando a goma na sala de espera (a) até serem direcionados para sala de testagem (b) para adaptação ao claro ou ao escuro. Após o tempo de adaptação, os participantes iniciaram a testagem (c) para o Estudo 1 ou Estudo 2).

5.10 Tamanho Amostral

Para cálculo do tamanho amostral, valores de referência considerados “padrões” em estudos passados foram utilizados (Fernandes et al., 2019, 2020). Os valores para os coeficientes de variação foram utilizados para o cálculo. Considerando um teste com valor de significância de ,05 e poder de 85%, seria necessário considerar apenas 14 participantes para a amostra (de cada um dos estudos). Contudo, a margem de erro de

25% seria considerada um valor passível de perda amostral. Desta feita, o poder de 90% e, juntamente com os coeficientes e limites de tolerância, o valor de 20 participantes seria suficiente para alcançar o tamanho mínimo de efeito significativo (Charan & Biswas, 2013; Sullivan & Feinn, 2012).

É importante mencionar que esse protocolo conta com um valor de significância de ,01, poder de 85% e atrito antecipado de 20%, requerendo cerca de 50 participantes para cada grupo. Apesar de nessa pesquisa o tamanho amostral ser menor que o proposto no protocolo, (i) foram avaliadas menos medidas secundárias do que o protocolo sugere e (ii) algumas medidas do protocolo serão realizadas em estudos posteriores.

5.11 Desfechos do Estudo

Os principais desfechos do estudo foram os efeitos da nicotina na sensibilidade ao contraste para as frequências espaciais (Estudo 1) e na sensibilidade ao contraste cromática (Estudo 2). Para o Estudo 1, maior a curva de SC, melhor a discriminação do participante. Para o Estudo 2, menor o limiar, melhor a discriminação para o subteste *Trivector*. Ainda, menor área da elipse (e seus parâmetros), melhor a habilidade discriminatória. Foram consideradas diferenças estatisticamente significantes ou resultados com diferenças de, no mínimo, 10% entre cada condição. Cada desfecho foi analisado após o final dos três períodos (placebo, 2-mg e 4-mg). Como já mencionado, não existem evidências sobre efeitos de aprendizado ou prática utilizando o *Metropsis* (Fernandes et al., 2019) ou CCT (Costa et al., 2006). Os desfechos secundários foram relacionados com os efeitos dos dados biossociodemográficos nos resultados dos testes.

5.12 Equipamento Utilizado

Os estímulos foram apresentados em um monitor LG de 19 polegadas (CRT) com resolução espacial de 1024 x 786 pixels e resolução temporal de 100 Hz. Todo

estímulo foi gerado usando o sintonizador e gerador de estímulos *Visual Stimulus Generator VSG 2/5* (Cambridge Research Systems) em um *Precision T3500* com uma placa de vídeo *W3500*. A luminância e a correção gama do monitor foram ajustadas com o programa *LightScan* e o fotômetro *ColCAL MKII* (Cambridge Research Systems). Os estímulos e procedimentos utilizados em ambos os estudos, tal como as análises aplicadas, serão demonstradas nos capítulos a seguir, respectivos a cada estudo.

5.13 A Escolha do Teste Estatístico

Conforme observado em estudos anteriores, o uso do *Metropsis* e do CCT pode promover resultados confiáveis mesmo com amostra reduzida (Fernandes et al., 2019, 2020). Em simulações, algumas amostras reduzidas ($n = 10$) constituem pouca, ou nenhuma, diferença para amostras maiores (e.g., $n = 40$) para os mesmos testes que foram utilizados aqui. Isso indica que, mesmo em rápida aplicação, e em curto espaço de tempo, as medidas são confiáveis e se mantêm estáveis independente de um grande acréscimo à amostra. Grande parte disso se deve ao fato de serem utilizadas medidas repetidas, onde o participante é seu próprio controle para determinado teste. O mesmo ocorre para a apresentação do estímulo. Em delineamentos com medidas repetidas, a apresentação dos estímulos com um rigoroso procedimento psicométrico, tal como observado no *Metropsis* e CCT (aproximadamente 80% e 75%, respectivamente) minimiza efeitos de aprendizagem, de fadiga e aumenta o número de apresentações e/ou exposições ao estímulo (Fernandes et al., 2019). De modo breve, um único participante pode realizar uma medida com 100 apresentações de estímulos em aproximadamente 6 minutos (i.e., apenas um participante forneceria 100 respostas ao *software*, em vez de apenas uma).

No entanto, o cálculo do tamanho amostral em ensaio clínico é de fundamental importância para sua confiabilidade, independente do teste utilizado (Charan & Biswas,

2013; Sullivan & Feinn, 2012). Com isto, também foi aplicado um rigoroso critério para escolha da análise estatística.

Sabendo que o tamanho amostral seria reduzido, os testes de normalidades padrão não foram utilizados; isto é, o *Shapiro-Wilk*, indicado para amostras menores, não foi empregado neste estudo. Do contrário, por uma análise mais rigorosa da distribuição dos dados, os valores de assimetria e curtose foram considerados. Não excedendo ± 1.96 , os dados foram considerados passíveis de análise paramétrica (Antonius, 2003; Tabachnick & Fidell, 2007). Ainda, com parâmetros sólidos como média (em vez de postos, por exemplo) as análises também consideraram a existência ou não de valores extremos, multicolinearidade, violação da esfericidade etc. É preciso mencionar que mesmo nesses casos, a análise multivariada é complexa e robusta para leves violações das normalidades (Antonius, 2003; Tabachnick & Fidell, 2007). De todo modo, os valores de assimetria e curtose foram reportados e a distribuição dos resíduos foi normal de acordo com esses critérios.

Capítulo 6 – Estudo 1

6. Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Acromático em Adultos não Fumantes

6.1 Método

6.1.1 Estímulos

O *Metropsis* (Cambridge Research Systems Ltd., Rochester, UK) foi utilizado para determinar a sensibilidade ao contraste visual acromático (i.e., a FSC). Os estímulos utilizados pelo *Metropsis* para a FSC foram lineares e verticalmente orientados, compostos por grades senoidais verticais de ,2; 1,0; 3,3; 5,7; 8,8; 13,2 e 15,9 ciclos por grau (cpg). Os estímulos foram apresentados em um monitor CRT (ver descrições gerais), porém observados constantemente pelo pesquisador em um monitor à parte para evitar efeitos chão (*floor*) e teto (*ceiling*) de alguma das frequências espaciais. Os estímulos utilizados consistiram em grades isoluminantes com dimensões de aproximadamente 5° de ângulo visual e apresentados a 2,5° de distância do ponto de fixação, localizado no centro da tela.

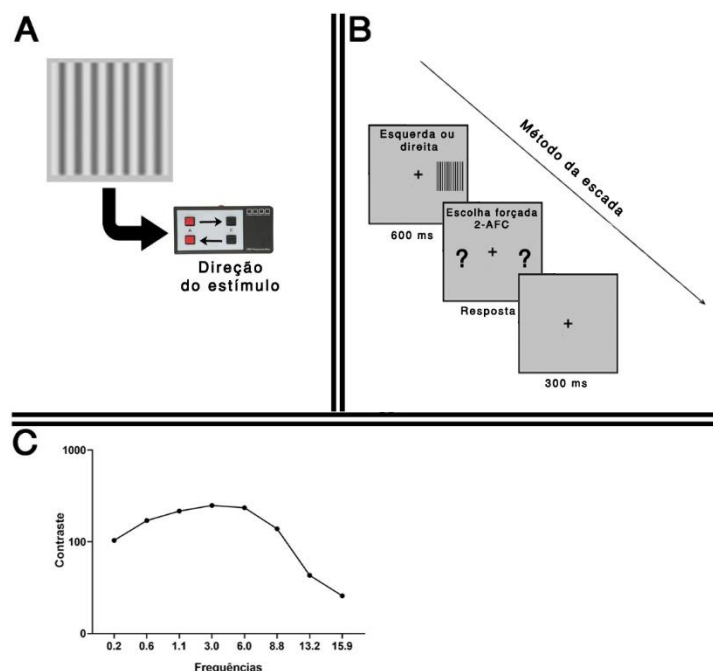
O *Metropsis* utiliza uma função psicométrica que relaciona a intensidade do estímulo à probabilidade (%) de detecção do mesmo pelo participante. Assim, não há um ponto onde o participante repentinamente detecta o estímulo; em vez disso, há um aumento gradual na probabilidade de detecção à medida que a intensidade do estímulo aumenta (para maiores detalhes, ver Fernandes et al., 2019). O tempo total para obter a curva de FSC durou aproximadamente 20 minutos. Desta feita, o tempo total para completar o teste estava dentro do pico plasmático da nicotina, conforme reportado por Russell et al. (1976) e Fernandes et al. (2020).

6.1.2 Procedimentos

Antes do início de cada sessão, as instruções foram fornecidas para os participantes de modo que foram instruídos a responder priorizando mais acurácia que velocidade. As medidas foram realizadas a 150 cm da tela do monitor e os participantes foram adaptados ao claro antes de serem testados (Fernandes et al., 2019).

A tarefa do participante foi responder quando e onde o estímulo aparecia para que as curvas de SC fossem geradas (Fig. 18). O método psicofísico da escolha forçada com duas alternativas espaciais (2-AFC), onde o estímulo se apresentava, aleatoriamente, à esquerda ou à direita no monitor de respostas foi utilizado. Para isto, o participante precisava pressionar um dos botões da caixa de resposta (CB6, CRS) mesmo quando não pudesse ver o estímulo (Fig. 18A). Os estímulos tinham o tempo de exposição de 600 ms, com intervalo entre eles de 300 ms (Fig. 18B). Utilizamos uma condição fotópica com luminância média de 40 cd/m². Ao final, curva de SC foi formada para cada participante (o tempo e a quantidade de *trials* dependeram das respostas individuais) (Fig. 18C).

Foi utilizado o método psicofísico da escada em escala logarítmica baseando-nos em passos dinâmicos. Deste modo, ao final do teste o *Metropsis* fez automaticamente o cálculo dos limiares para cada frequência usando a média dos valores de reversões para cada frequência. Para cada pico, a variação foi calculada considerando os desvios da média. O mesmo ocorreu para os vales. Ao final, o quadrado médio dos desvios junto à raiz quadrada das variâncias foram utilizados para formar os limiares finais. Isto é, os valores foram calculados utilizando o ponto central entre picos e vales.

Fig. 18*Mensuração da Função de Sensibilidade ao Contraste*

Nota. A tarefa do participante foi identificar a direção do estímulo; isto é, se se localizava em algum dos dois extremos da tela (A). A intensidade (ou nível) de contraste, tal como a frequência espacial utilizada, foram randomizadas no *Metropsis* (B). Ao final do procedimento, o *software* gerou uma curva de sensibilidade ao contraste para cada participante, englobando as frequências espaciais selecionadas (C).

Inicialmente, os valores de contraste aparecem em um nível supralimiar (onde se espera que o participante apresente uma série de respostas corretas) até alcançar o critério dinâmico da escada que consiste em três respostas corretas consecutivas e um erro. Então, a cada três respostas corretas consecutivas o contraste diminuiu 0.7 dB e aumentou 1.0 dB a cada resposta errada. Cada vez que o participante alcançou este critério, formou-se uma reversão. Este processo durou todo o experimento. O teste finalizou após o registro de oito reversões para cada frequência espacial testada. É importante mencionar que o *Metropsis* utiliza um algoritmo com proporção para obter quase 80% de acurácia ao final do teste (Fernandes et al., 2019). Nenhum *feedback*

visual ou auditório foi utilizado como elemento motivacional, uma vez que não se observa relação entre *feedback* e resposta do participante (Herzog & Fahle, 1997).

6.1.3 Análise Estatística

Para a caracterização dos participantes foram utilizadas medidas de tendência central e medidas de dispersão. A distribuição dos dados foi investigada através do método *Monte Carlo* para assimetria e curtose, considerando o valor de $\pm 1,96$ como violação da normalidade (Antonius, 2003; Tabachnick & Fidell, 2007). Como não houve violação da normalidade, foram utilizadas análises paramétricas. *A priori*, os dados foram plotados em gráficos e depois analisados de acordo com suas variáveis. As análises foram realizadas através do pacote estatístico SPSS 23.0 e *MATLAB* R2018b (mathworks.com).

Para comparar variáveis nominais, como gênero, o teste não paramétrico qui-quadrado (2 x 3) foi utilizado. Para a FSC, a análise de variância multivariada (rMANOVA) para medidas repetidas foi utilizada (rrMANOVA). É importante mencionar que a rMANOVA é uma análise robusta e flexível a pequenos tamanhos amostrais. Para a rrMANOVA, foram consideradas sete variáveis dependentes (as saídas ou os limiares para cada uma das sete frequências espaciais) e uma variável independente, dentre sujeitos, com três níveis (placebo, 2-mg ou 4-mg). Não foram observados valores extremos (considerando a distância de *Cook*), nem violação da homogeneidade variância-covariância (Box M), nem foi observada multicolinearidade. Gênero, idade e nível de escolaridade também foram adicionados como covariáveis nos modelos de rMANOVA. Em análises adicionais, também foram adicionados peso, altura e IMC como covariáveis no modelo. O *post-hoc* para rMANOVA foi realizado considerando análises canônicas discriminantes (Antonius, 2003; Tabachnick & Fidell, 2007). O tamanho do efeito utilizado para a rMANOVA foi o *Cohen's f* e o *g* de *Hedges*

para as comparações em pares, que são geralmente utilizados para reduzir vieses nos tamanhos de efeito em amostras menores (Lakens, 2013). A correção *Bonferroni* foi aplicada para evitar erros do tipo I.

A análise de regressão escolhida foi a *bootstrapping* por ser mais apropriada a amostras pequenas devido à sua flexibilidade (Freedman, 1981). A equação geral da regressão *bootstrapping* seguiu a fórmula-padrão: $B_{r=1999} \equiv [A + B_1 x_1 + \dots B_k x_{ik}]$, e os resíduos para cada observação foram calculados baseados no erro-padrão: $E_* = A_i - \hat{A}$. Um total de 2,000 reamostragens foram utilizadas para a análise de regressão (Freedman, 1981).

Análise estatística *Bayesiana* também foi realizada (para confirmar os resultados da rMANOVA). O modelo nulo utilizado pela estatística *Bayesiana* representa ausência de diferenças. Assim, mudanças no modelo juntamente com algoritmos válidos indicam um alto grau de confiabilidade. Ainda, os *Bayes factors*, robustez máxima e os 95% do intervalo para os efeitos da análise (δ) foram reportados (Stefan et al., 2019).

Por fim, os eventos adversos foram apresentados como porcentagens em cada condição (a análise foi realizada computando 1 para presença e 0 para ausência de efeito adverso). O mesmo foi realizado para investigar a eficácia do cegamento (a razão entre os erros e as respostas corretas em relação à condição em que o participante acreditava ter sido aplicado foi utilizada como medida para cálculo nesta análise). Foram realizadas análises com o teste Q de *Cochran* (Seeger & Gabrielson, 1968).

6.2 Resultados

6.2.1 Características da Amostra

A Tabela 6 apresenta as características biossociodemográficas dos participantes incluídos neste estudo. Em linhas gerais, os participantes tiveram idade média de 24,2

anos ($DP = 3,1$ anos) e escolaridade maior a 10 anos de estudo ($M = 15,0$; $DP = 1,5$ anos).

Tabela 6

Características Biossociodemográficas da Amostra

Características	Participantes	(%)
<i>Total</i>	13	(100)
<i>Sexo</i>		
Masculino	7	53,8
Feminino	6	46,2
<i>Idade (anos)</i>	Média	Alcance
Masculino	22,70	(18–27)
Feminino	26,00	(19–29)
<i>Escolaridade (anos)</i>	Média	Alcance
Masculino	14,57	(13–17)
Feminino	15,50	(14–17)
<i>Peso (kg)</i>	Média	Alcance
Masculino	72,29	(46–89)
Feminino	62,33	(53–82)
<i>Altura (cm)</i>	Média	Alcance
Masculino	176,86	(158–185)
Feminino	164,17	(154–175)
<i>Índice de massa corporal</i>	Média	Alcance
Masculino	22,59	(19–28)
Feminino	2,15	(16–25)

6.2.2 Função de Sensibilidade ao Contraste – FSC

Os dados descritivos para cada uma das frequências espaciais podem ser encontrados na Tabela 7. Houve diferenças entre as condições (placebo, 2-mg e 4-mg) [$F(18, 216) = 22,9$, $p < ,001$, Lambda de Wilks = ,04, $f = 1,30$; 95% ICs: 1,14 – 1,43]. Não houve interação no modelo quando as variáveis gênero ($p = ,205$), idade ($p = ,342$), nível de escolaridade ($p = ,619$), peso ($p = ,108$), altura ($p = ,244$) e IMC ($p = ,259$) foram adicionadas.

Tabela 7*Estatísticas Descritivas das Medidas de Sensibilidade ao Contraste*

N = 13	Placebo	2-mg	4-mg
0,2 cpg			
<i>M (DP)</i>	67,11 (1,20)	86,40 (19,53)	93,80 (2,53)
<i>Med (IIQ/2)</i>	65,46 (17,50)	84,85 (3,34)	86,66 (37,35)
<i>Var</i>	104,24	382,80	421,540
<i>Assim</i>	-,42	,85	,32
<i>Curt</i>	-,10	-,22	-,22
1,0 cpg			
<i>M (DP)</i>	111,45 (21,98)	138,74 (19,84)	153,18 (16,87)
<i>Med (IIQ/2)</i>	105,45 (3,34)	135,52 (36,14)	149,55 (29,72)
<i>Var</i>	484,18	393,98	284,72
<i>Assim</i>	,18	,53	,35
<i>Curt</i>	-,67	-,34	-,25
3,3 cpg			
<i>M (DP)</i>	173,73 (21,59)	20,93 (2,48)	199,80 (19,11)
<i>Med (IIQ/2)</i>	172,54 (33,20)	194,47 (35,04)	198,52 (45,17)
<i>Var</i>	466,48	419,78	366,34
<i>Assim</i>	-,19	,25	,27
<i>Curt</i>	-,08	,18	,14
5,7 cpg			
<i>M (DP)</i>	158,90 (29,38)	184,48 (18,23)	19,84 (26,49)
<i>Med (IIQ/2)</i>	167,00 (53,02)	189,73 (3,78)	189,85 (54,41)
<i>Var</i>	862,84	332,56	701,80
<i>Assim</i>	1,02	,78	1,22
<i>Curt</i>	,31	-,94	,44
8,8 cpg			
<i>M (DP)</i>	131,34 (29,25)	165,02 (38,18)	198,85 (2,90)
<i>Med (IIQ/2)</i>	126,64 (55,00)	17,85 (62,30)	195,74 (4,46)
<i>Var</i>	855,82	1457,72	436,49
<i>Assim</i>	,87	-,38	,23
<i>Curt</i>	,10	-,36	,48
130,2 cpg			
<i>M (DP)</i>	62,05 (11,01)	78,70 (14,09)	94,38 (11,18)
<i>Med (IIQ/2)</i>	65,00 (18,26)	76,45 (25,17)	94,00 (18,50)
<i>Var</i>	121,23	198,38	125,09
<i>Assim</i>	-,46	-,56	-,53
<i>Curt</i>	-,29	,14	-,72
15,9 cpg			
<i>M (DP)</i>	49,39 (14,18)	61,97 (11,67)	73,70 (7,62)
<i>Med (IIQ/2)</i>	47,85 (27,35)	59,50 (2,50)	74,00 (12,78)

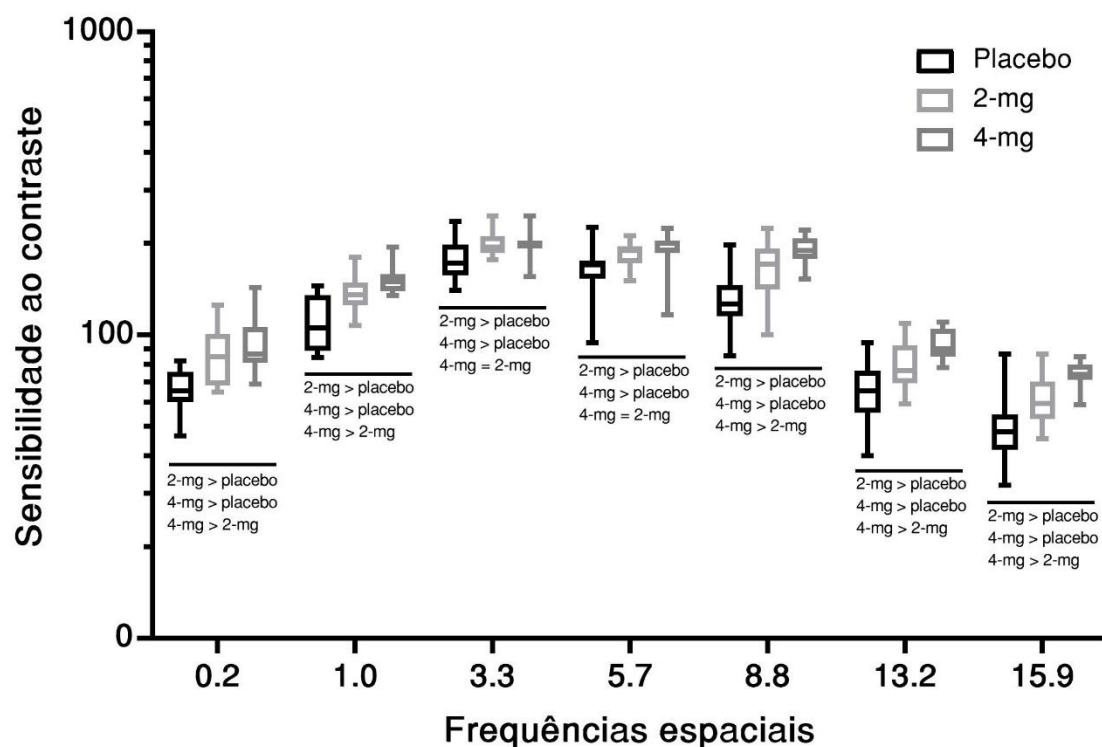
Var	173,82	136,40	58,10
Assim	,88	,87	,74
Curt	,36	,17	,37

Nota. Os dados apresentados correspondem à Média (M) Desvio-Padrão (DP), Mediana (Med), Intervalo Semi-Interquartil (IIQ), Variância (Var), Assimetria (Assi) e Curtose (Curt).

O consumo da goma placebo resultou em menor desempenho quando comparado ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p < ,05$) e da goma contendo 4-mg ($p < ,05$). Houve melhor desempenho para a goma de 4-mg quando comparada com a goma de nicotina contendo 2-mg para as frequências baixas e altas ($p < ,05$). Os principais resultados para a FSC estão apresentados na Fig. 19. Destaca-se, a seguir, as análises canônicas de acordo com cada frequência espacial.

Fig. 19

Boxplots para a Função de Sensibilidade ao Contraste



Nota. Os dados estão apresentados em 10^{-4} unidades $u'v'$ do diagrama de cores CIE 1976. Cada *boxplot* corresponde aos dados dos participantes para as condições placebo, 2-mg e de 4-mg. As linhas centrais representam a mediana, as caixas representam a amplitude, e as extremidades das caixas representam os limites (máxima e mínima) de cada uma das frequências espaciais.

Frequência de 00,2 cpg

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor SC quando comparada ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = .003$, g de *Hedges* = 1,06; 95% ICs: ,74 – 2,50), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p < ,001$, g de *Hedges* = 1,37; 95% ICs: 1,21 – 3,15). Houve maior SC quando comparada a goma de nicotina contendo 4-mg com a goma contendo 2-mg de nicotina ($p = ,001$, g de *Hedges* = 1,17; 95% ICs: ,37 – 2,05).

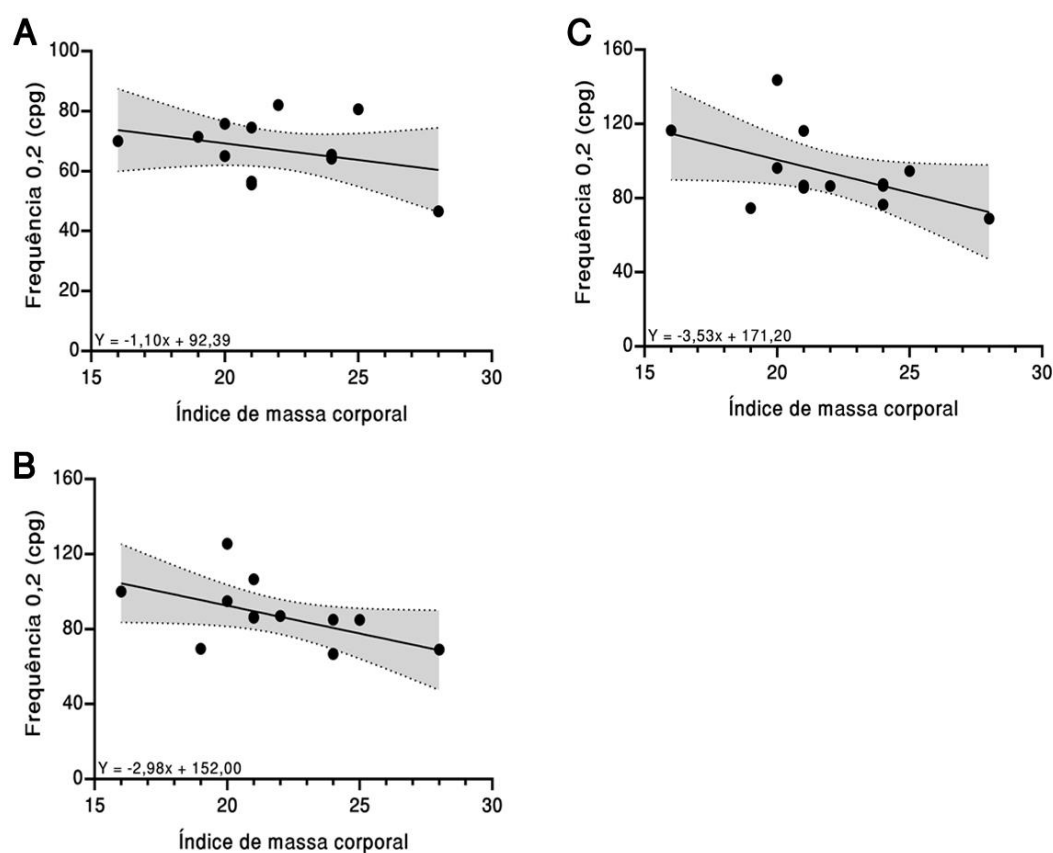
A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi $< ,001\%$, indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 16,04$, $\delta = ,64$; com um intervalo de 95% para δ de (,48 – ,76)]. As comparações *post-hoc* das estatísticas *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 14,63$; probabilidade *a posteriori* = 8,60), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 47,2$, probabilidade *a posteriori* = 45,35) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 32,93$, probabilidade *a posteriori* = 19,34)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para a frequência de 0,2 cpg dentre as três condições ($p > .05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições. Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos

resultados da frequência de 0,2 cpq para placebo [$F(3, 9) = 1,61$, $p = ,254$, R^2 ajustado = ,13; (β peso = ,12, $EPM = ,41$), (β altura = ,6, $EPM = ,49$), (β IMC = ,38, $EPM = 1,08$)], 2-mg [$F(3, 9) = 2,15$, $p = ,089$, R^2 ajustado = ,25; (β peso = ,56, $EPM = ,68$), (β altura = ,4, $EPM = ,82$), (β IMC = ,54, $EPM = 1,77$)], e 4-mg [$F(3, 9) = 2,24$, $p = ,153$, R^2 ajustado = ,23; (β peso = ,72, $EPM = ,78$), (β altura = ,42, $EPM = ,92$), (β IMC = ,74, $EPM = 2,02$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários de acordo com o protocolo, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 20.

Fig. 20

Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 0,2 cpq para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Frequência de 1,0 cpg

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor SC quando comparado ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = ,009$, g de *Hedges* = ,86; 95% ICs: ,02 – 1,62), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p < ,001$, g de *Hedges* = 1,84; 95% ICs: ,76 – 2,53). Houve maior SC quando comparada a goma de nicotina contendo 4-mg com a goma contendo 2-mg de nicotina ($p = ,011$, g de *Hedges* = ,84; 95% ICs: ,02 – 1,58).

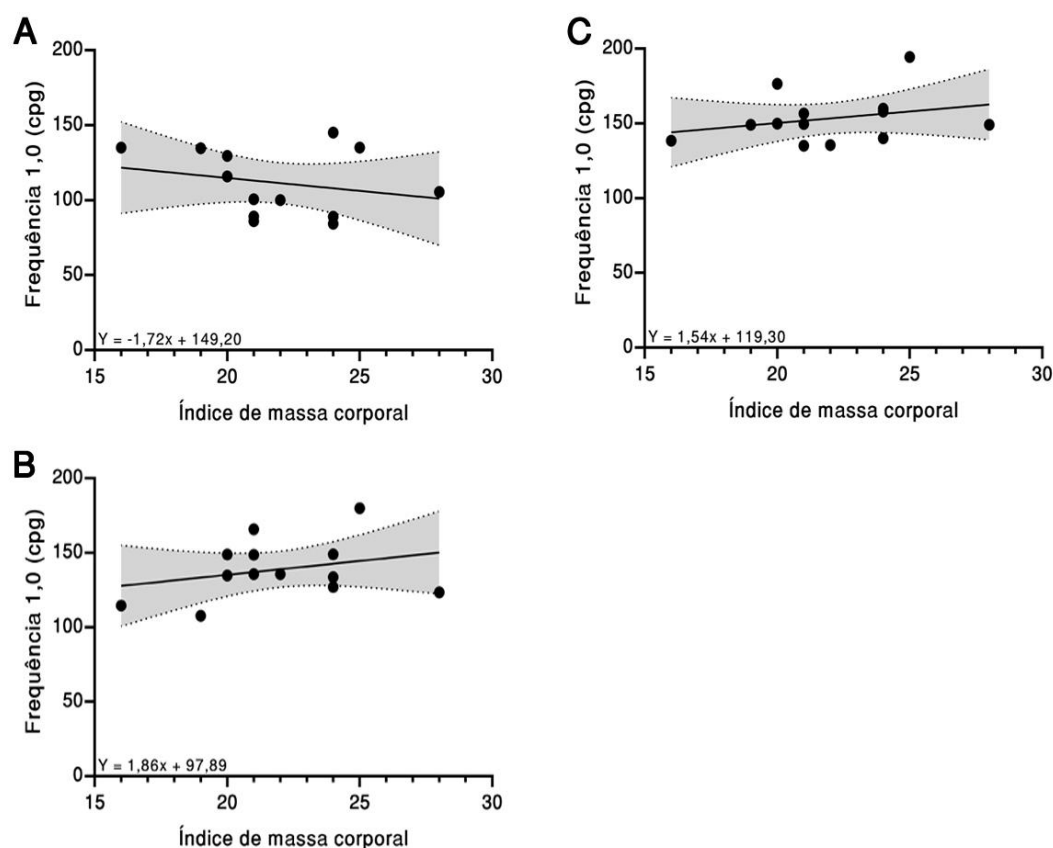
A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi <,004%, indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 11,14$, $\delta = ,62$; com um intervalo de 95% para δ de (,43 – ,70)]. As comparações *post-hoc* das estatísticas *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 6,31$; probabilidade *a posteriori* = 3,72), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 57,57$, probabilidade *a posteriori* = 52,48) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 5,41$, probabilidade *a posteriori* = 3,18)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para a frequência de 1,0 cpg dentre as três condições ($p > ,05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições. Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados da frequência de 1,0 cpg para placebo [$F(3, 9) = ,16$, $p = ,927$, R^2 ajustado = ,05; (β peso = ,16, $EPM = 1,08$), (β altura = ,03, $EPM = 1,28$), (β IMC = ,27, $EPM =$

2,79)], 2-mg [$F(3, 9) = ,32$, $p = ,808$, R^2 ajustado = ,09; (β peso = ,16, $EPM = ,95$), (β altura = ,03, $EPM = 1,12$), (β IMC = ,22, $EPM = 2,45$)], e 4-mg [$F(3, 9) = ,46$, $p = ,718$, R^2 ajustado = ,14; (β peso = ,33, $EPM = ,79$), (β altura = ,1, $EPM = ,93$), (β IMC = ,15, $EPM = 2,04$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 21.

Fig. 21

Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 1,0 cp/g para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Frequência de 3,3 cpg

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor SC quando comparada ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = ,016$, g de *Hedges* = ,78; 95% ICs: ,04 – 1,55), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p = ,005$, g de *Hedges* = ,96; 95% ICs: ,10 – 1,72). Não houve diferença para a SC quando comparadas as duas dosagens de nicotina ($p = ,850$).

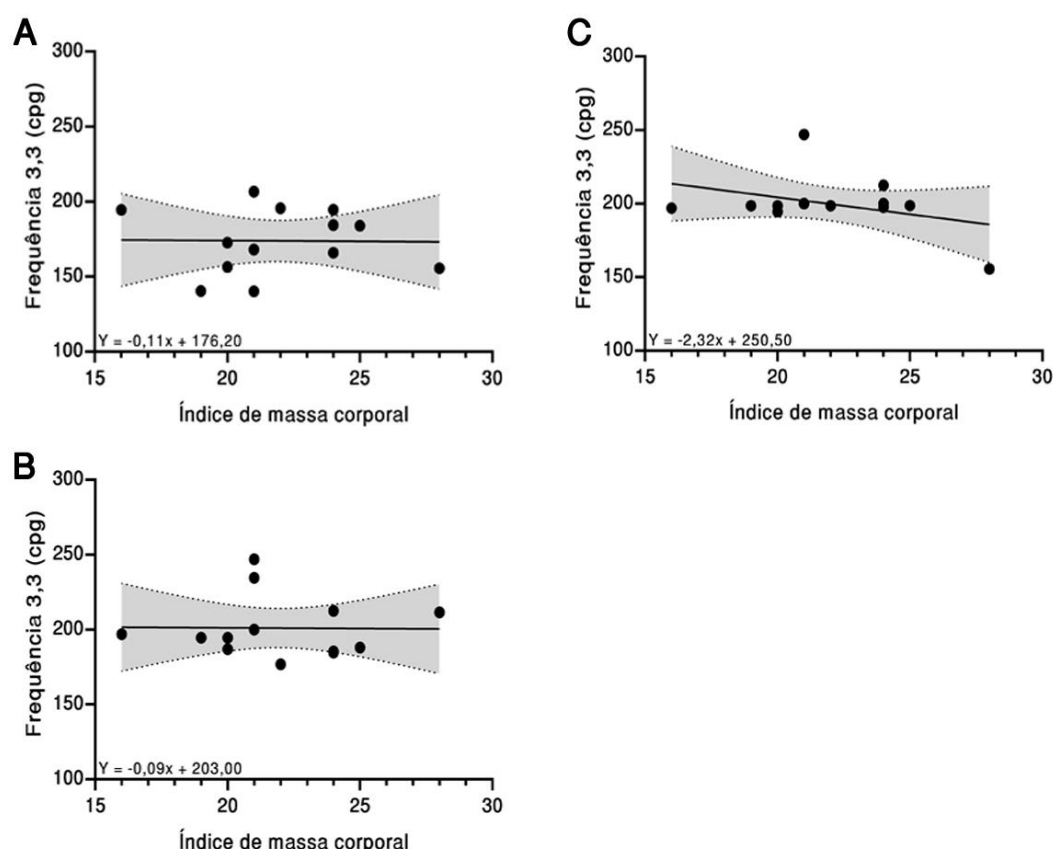
A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi $< ,001\%$ indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 47,24$, $\delta = ,50$; com um intervalo de 95% para δ de ($,34 - ,75$)]. As comparações *post-hoc* das estatísticas *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 3,89$; probabilidade *a posteriori* = 2,28), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 1,9$, probabilidade *a posteriori* = 6,40) e (4-mg = 2-mg; $BF_{10} = ,28$, probabilidade *a posteriori* = ,17)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para a frequência de 3,3 cpg dentre as três condições ($p > ,05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições. Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados da frequência de 3,3 cpg para placebo [$F(3, 9) = 1,34$, $p = ,322$, R^2 ajustado = ,07; (β peso = ,08, $EPM = ,90$), (β altura = ,52, $EPM = 1,07$), (β IMC = ,16, $EPM = 2,34$)], 2-mg [$F(3, 9) = 1,07$, $p = ,41$, R^2 ajustado = ,01; (β peso = ,62, $EPM = ,89$), (β altura = ,04, $EPM = 1,04$), (β IMC = ,29, $EPM = 2,29$)], e 4-mg [$F(3, 9) = 1,03$, $p = ,426$, R^2 ajustado = ,01; (β peso = ,72, $EPM = ,84$), (β altura = ,52, $EPM = ,98$), (β IMC = ,1, $EPM = 2,15$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam

influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 22.

Fig. 22

Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 3,3 cpq para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Frequência de 5,7 cpq

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor SC quando comparada ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = ,017$, g de Hedges = ,77; 95% ICs: ,15 – 1,43), e da goma

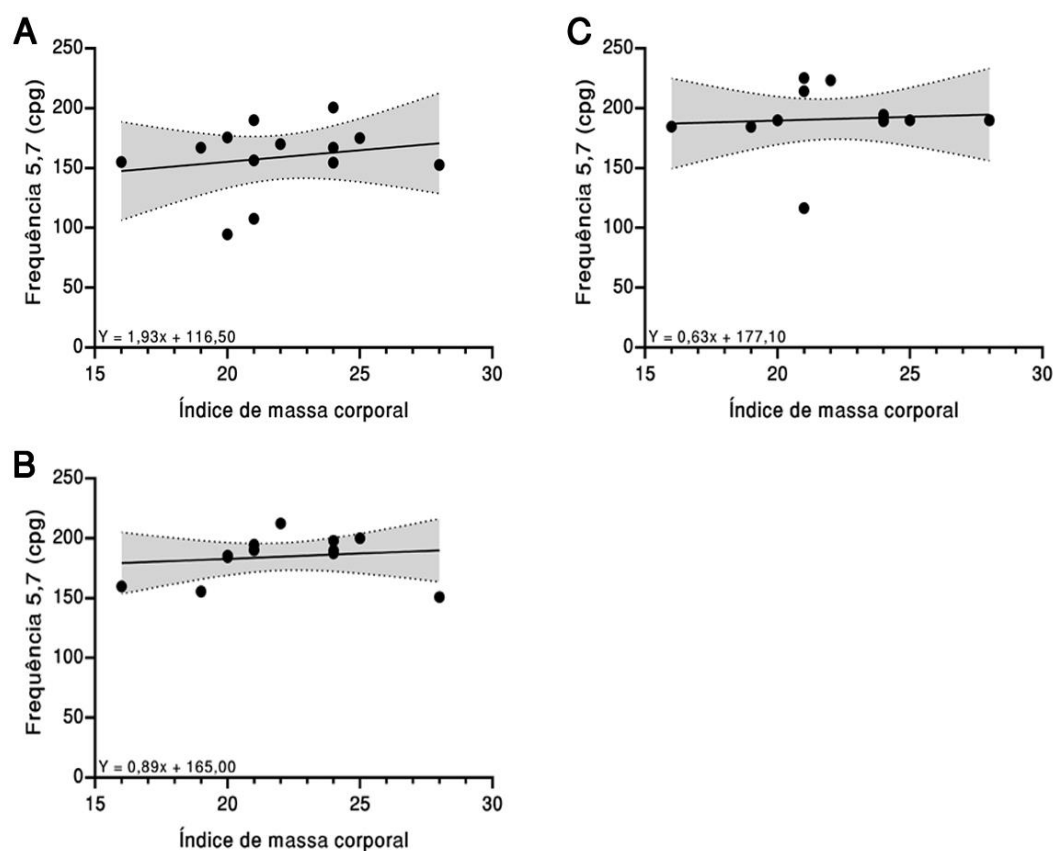
de nicotina contendo 4-mg ($p = ,014$, g de *Hedges* = ,80; 95% ICs: ,04 – 1,56). Não houve diferença para a SC quando comparadas as duas dosagens de nicotina ($p = ,440$).

A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi <,004%, indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 17,65$, $\delta = ,57$; com um intervalo de 95% para δ de (,42 – ,64)]. As comparações *post-hoc* das estatísticas *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 3,79$; probabilidade *a posteriori* = 2,22), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 4,32$, probabilidade *a posteriori* = 2,54) e (4-mg = 2-mg; $BF_{10} = ,36$, probabilidade *a posteriori* = ,21)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para a frequência de 5,7 cpg dentre as três condições ($p > ,05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições. Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados da frequência de 5,7 cpg para placebo [$F(3, 9) = ,8$, $p = ,529$, R^2 ajustado = ,05; (β peso = ,02, $EPM = 1,32$), (β altura = ,41, $EPM = 1,55$), (β IMC = ,11, $EPM = 3,40$)], 2-mg [$F(3, 9) = ,55$, $p = ,663$, R^2 ajustado = ,12; (β peso = ,54, $EPM = ,85$), (β altura = ,61, $EPM = 1,00$), (β IMC = ,32, $EPM = 2,19$)], e 4-mg [$F(3, 9) = ,03$, $p = ,993$, R^2 ajustado = ,01; (β peso = ,09, $EPM = 1,33$), (β altura = ,01, $EPM = 1,57$), (β IMC = ,05, $EPM = 3,43$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 23.

Fig. 23

Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 5,7 cp/g para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Frequência de 8,8 cp/g

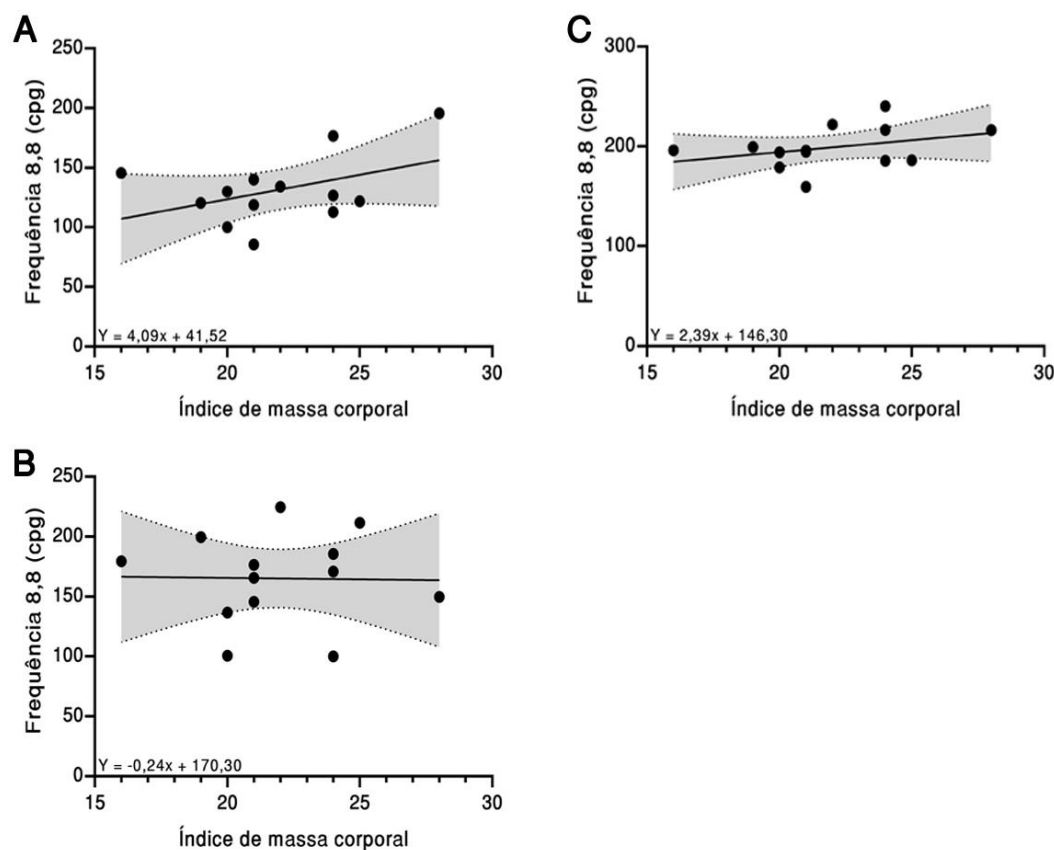
Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor SC quando comparada ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = ,015$, g de Hedges = ,80; 95% ICs: ,12 – 1,73), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p < ,001$, g de Hedges = 1,96; 95% ICs: ,80 – 2,60). Houve maior SC quando comparada a goma de nicotina contendo 4-mg com a goma contendo 2-mg de nicotina ($p = ,02$, g de Hedges = ,74; 95% ICs: ,20 – 1,38).

A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi $< .003\%$, indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 25,25$, $\delta = .62$; com um intervalo de 95% para δ de $(.45 - .76)$]. As comparações *post-hoc* das estatísticas *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 4,25$; probabilidade *a posteriori* = 2,50), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 28,73$, probabilidade *a posteriori* = 17,26) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 3,31$, probabilidade *a posteriori* = 1,94)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para a frequência de 8,8 cpq dentre as três condições ($p > .05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições. Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados da frequência de 8,8 cpq para placebo [$F(3, 9) = 1,9$, $p = .20$, R^2 ajustado = ,18; (β peso = ,85, $EPM = 1,15$), (β altura = ,36, $EPM = 1,36$), (β IMC = ,03, $EPM = 2,98$)], 2-mg [$F(3, 9) = .24$, $p = .867$, R^2 ajustado = ,02; (β peso = ,24, $EPM = 1,85$), (β altura = ,76, $EPM = 2,18$), (β IMC = ,15, $EPM = 4,78$)], e 4-mg [$F(3, 9) = 1,2$, $p = .366$, R^2 ajustado = ,05; (β peso = ,55, $EPM = ,89$), (β altura = ,63, $EPM = 1,05$), (β IMC = ,52, $EPM = 2,30$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 24.

Fig. 24

Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 8,8 cpq para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Frequência de 130,2 cpq

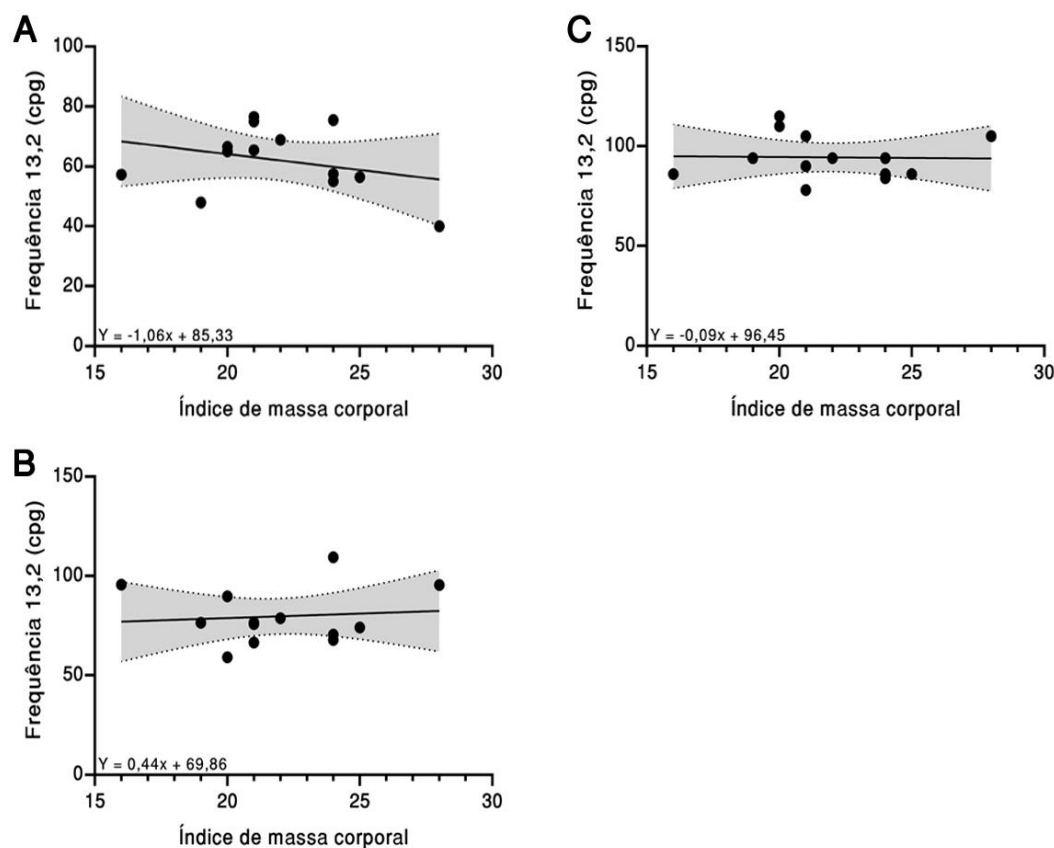
Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor SC quando comparada ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = ,012$, g de Hedges = ,82; 95% ICs: ,14 – 1,75), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p < ,001$, g de Hedges = 2,14; 95% ICs: 1,19 – 3,14). Houve maior SC quando comparada a goma de nicotina contendo 4-mg com a goma contendo 2-mg de nicotina ($p = ,012$, g de Hedges = ,82; 95% ICs: ,06 – 1,53).

A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi $< ,006\%$ indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 27,87$, $\delta = ,79$; com um intervalo de 95% para δ de $(,74 - ,86)$]. As comparações *post-hoc* das estatísticas *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 5,09$; probabilidade *a posteriori* = 2,99), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 38,99$, probabilidade *a posteriori* = 22,20) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 4,94$, probabilidade *a posteriori* = 2,90)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para a frequência de 130,2 cpq dentre as três condições ($p > ,05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições. Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados da frequência de 130,2 cpq para placebo [$F(3, 9) = ,38$, $p = ,771$, R^2 ajustado = ,01; (β peso = ,02, $EPM = ,52$), (β altura = ,1, $EPM = ,62$), (β IMC = ,28, $EPM = 1,35$), 2-mg [$F(3, 9) = ,14$, $p = ,933$, R^2 ajustado = ,01; (β peso = ,15, $EPM = ,70$), (β altura = ,26, $EPM = ,82$), (β IMC = ,11, $EPM = 1,80$)], e 4-mg [$F(3, 9) = ,32$, $p = ,812$, R^2 ajustado = ,02; (β peso = ,24, $EPM = ,54$), (β altura = ,45, $EPM = ,63$), (β IMC = ,07, $EPM = 1,38$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 25.

Fig. 25

Correlações entre Índice de Massa Corporal dos 13 Participantes e a Frequência Espacial de 130,2 cpg para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Frequência de 15,9 cpg

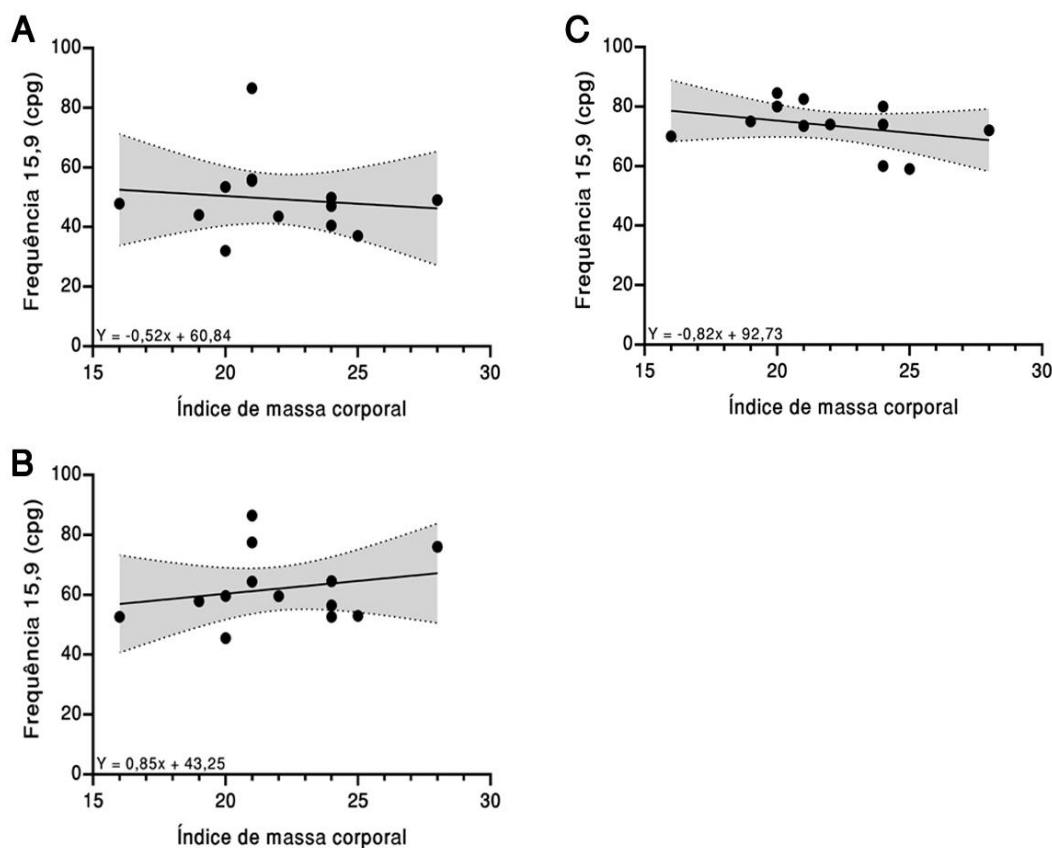
Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor SC quando comparada ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = ,004$, g de Hedges = ,97; 95% ICs: ,11 – 1,73), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p < ,001$, g de Hedges = 1,62; 95% ICs: ,48 – 2,18). Houve maior SC quando comparada a goma de nicotina contendo 4-mg com a goma contendo 2-mg de nicotina ($p = ,009$, g de Hedges = ,86; 95% ICs: ,06 – 1,52).

A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi $< ,004\%$ indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 52,78$, $\delta = ,84$; com um intervalo de 95% para δ de $(,64 - ,96)$]. As comparações *post-hoc* das estatísticas *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 11,35$; probabilidade *a posteriori* = 6,67), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 35,54$, probabilidade *a posteriori* = 2,67) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 6,3$, probabilidade *a posteriori* = 3,70)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para a frequência de 15,9 cpq dentre as três condições ($p > ,05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições. Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados da frequência de 15,9 cpq para placebo [$F(3, 9) = ,73$, $p = ,562$, R^2 ajustado = $,07$; (β peso = $,8$, $EPM = ,60$), (β altura = $,43$, $EPM = ,70$), (β IMC = $,18$, $EPM = 1,54$), 2-mg [$F(3, 9) = 1,12$, $p = ,392$, R^2 ajustado = $,03$; (β peso = $,84$, $EPM = ,50$), (β altura = $,36$, $EPM = ,59$), (β IMC = $,53$, $EPM = 1,30$)], e 4-mg [$F(3, 9) = ,78$, $p = ,531$, R^2 ajustado = $,05$; (β peso = $,16$, $EPM = ,34$), (β altura = $,12$, $EPM = ,40$), (β IMC = $,27$, $EPM = ,89$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 26.

Fig. 26

Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Frequência Espacial de 15,9 cpG para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



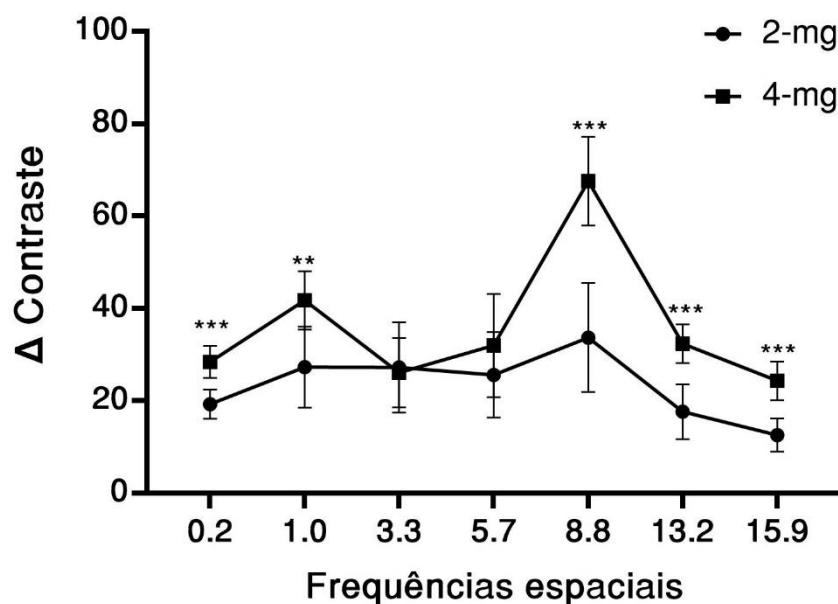
Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

6.2.2.1 Diferenças entre limiares. Com o intuito de analisar as diferenças entre os limiares para a FSC (Δ Contraste) entre as condições de nicotina e placebo, análises adicionais foram realizadas com intuito de ilustrar a dose-dependência e a ausência de ruído de resposta. De modo simples, a equação considerou a diferença de contraste entre a dose de nicotina (e.g., 2-mg ou 4-mg e a dose placebo). A análise indicou diferenças significativas entre 2-mg e 4-mg [$F(12, 142) = 12,52$, $p = ,004$, Lambda de Wilks = ,68,

$f = ,94$; 95% ICs: $,78 - 1,11$]. Os padrões obtidos seguiram o mesmo reportado nas seções anteriores (Fig. 27).

Fig. 27

Gráfico da Diferença entre a Sensibilidade ao Contraste (Δ Contraste) Considerando as Doses de Nicotina e as Doses Placebo



Nota. A diferença de contraste foi calculada através da diferença entre o valor bruto para a condição de nicotina (2-mg ou 4-mg) e o valor bruto para a condição placebo. Diferenças significativas foram encontradas para as frequências baixas e altas. *** $p < ,001$; ** $p < ,01$.

6.2.3 Efeitos Adversos

Os resultados referentes aos efeitos adversos do presente estudo estão apresentados na Tabela 8. Como mencionado, cada um dos efeitos adversos foi perguntado aos participantes que relatou a presença ou não, se acredita estar ou não relacionado ao uso da goma. Como observado, apesar da incidência de alguns eventos ter sido mais alta (e.g., a náusea e o formigamento são comuns devido ao mecanismo fisiológico da nicotina), não observamos diferenças na incidência dentre condições

(placebo, 2-mg e 4-mg) e entre condições. Isto é, não houve diferenças entre os que relataram os efeitos adversos quando comparados aos que não relataram, e estas diferenças não foram relacionadas ao aumento ou diferenciação da dosagem.

Tabela 8

Relação dos Efeitos Adversos

	Placebo	2-mg	4-mg	Q	p
Cefaleias	5 (38,5%)	3 (23,1%)	5 (38,5%)	,86	,651
Tontura	4 (3,8%)	3 (23,1%)	4 (3,8%)	1,76	,417
Náuseas	5 (38,5%)	5 (38,4%)	4 (3,8%)	,22	,895
Formigamento	6 (46,2%)	2 (15,4%)	5 (38,5%)	2,89	,236
Outros (sudorese, agitação etc.)	4 (3,8%)	0 (,0%)	0 (,0%)	6,00	,520

Nota: Q = valor da estatística de *Cochran*.

6.2.4 Cegamento

Após o final das três sessões, os participantes adivinharam qual condição eles haviam recebido ao longo das três sessões (placebo, 2-mg ou 4-mg). Isto é, quando um participante acreditou que a primeira sessão foi placebo, disse "placebo" e o responsável da equipe marcou "placebo" no respectivo espaço referente à primeira sessão. Vale mencionar que ambos (o participante e o pesquisador desta etapa) estavam cegos ao tipo de intervenção e que, desta feita, a adivinhação de uma das opções, sem certeza, é um dos mecanismos de avaliação da eficácia do cegamento de muitos ensaios clínicos (Hróbjartsson et al., 2014). Conforme observado na Tabela 9, cerca de 30% dos participantes que estiveram na condição placebo acertaram sua condição enquanto nove (70%) adivinharam entre a condição de 2-mg ou 4-mg. Este padrão diferiu para os participantes das condições envolvendo nicotina; no entanto, não foi significativo de acordo com o teste Q de *Cochran* ($p > ,05$). Para a goma contendo 2-mg, cinco

participantes (38,5%) acertaram a condição de 2-mg, enquanto oito alternaram adivinhar entre placebo ou 4-mg (61,5%). Por fim, para a goma contendo 4-mg, seis participantes (46,2%) acertaram a condição sorteada. No entanto, sete adivinharam entre placebo ou 4-mg (53,8%). Os resultados indicam que o cegamento não foi quebrado e, de fato, houve eficácia no cegamento. É importante mencionar que os dados da seguinte Tabela estão ordenados de forma em que os valores apresentados nas colunas referem-se às condições sorteadas enquanto os valores que estão nas linhas referem-se às adivinhadas pelos participantes.

Tabela 9

Eficácia do Cegamento

Cegamento – Condição adivinhada x Condição sorteada				
	Placebo	2-mg	4-mg	Total
Placebo	4	5	4	13
2-mg	5	5	3	13
4-mg	3	4	6	13
				$Q = ,80$ ($p = ,670$)

Capítulo 7 – Estudo 2

7. Efeitos da Nicotina na Sensibilidade ao Contraste Cromático em Adultos não Fumantes

7.1 Método

7.1.1 Estímulos

O CCT (Cambridge Research Systems Ltd., Rochester, UK) foi utilizado para determinar a sensibilidade ao contraste visual cromático. O estímulo utilizado no CCT é um padrão composto por pequenos círculos distribuídos de tamanhos variados aleatoriamente (é conhecido por ser um anel ou "C" de *Landolt* colorido que é exibido em um fundo pseudoisocromático).

Para garantir que a discriminação do estímulo (daqui em diante chamado de "C" de *Landolt*) fosse identificada com base apenas nas informações cromáticas, o ruído de luminância foi adicionado, subdividindo o fundo e o estímulo em pequenos círculos de tamanhos variados (entre 2,8° minutos de arco e 5,7° minutos de arco, em diâmetro) e variando a luminância de cada círculo aleatoriamente (8, 1, 12, 14, 16, e 18 cd/m², com incrementos de 2 cd/m²) (Paramei & Oakley, 2014).

O CCT utiliza um fundo acromático especificado por unidades $u' = ,1977$, $v' = ,4689$ (do diagrama de cromaticidade CIE 1976) (Mollon & Regan, 2000). O "C" de *Landolt*, o alvo, é definido por um contraste cromático sobreposto; a posição de cada abertura variou aleatoriamente em qualquer uma das quatro posições cardinais: acima, abaixo, esquerda e direita. Utilizou-se uma distância para o monitor de três metros, correspondendo a uma abertura de 1,25° de ângulo visual. O contraste cromático variou até gerar o limiar. Dois subtestes foram utilizados a partir do CCT: o subteste *Trivector* e o subteste *Ellipse*. Na apresentação dos estímulos, a cromaticidade do "C" de *Landolt* variou diferindo do fundo a uma excursão mínima de ,001 unidades $u'v'$.

No subteste *Trivector*, que estima os limiares de discriminação para os cones S-, M- e L-, o contraste cromático variou ao longo dos três eixos de confusão: Protan (ponto copunctal $u' = ,678$, $v' = ,501$), Deutan (ponto copunctal $u' = -1,217$, $v' = ,782$), e Tritan (ponto copunctal $u' = ,257$, $v' = ,0$), respectivamente. Como mencionado, o fundo foi acromático ($u' = ,1977$, $v' = ,4689$) (Mollon & Regan, 2000; Paramei & Oakley, 2014).

No subteste *Ellipse*, que estima a discriminação geral cromática, três elipses de *MacAdam* foram plotadas em um diagrama de cromaticidade $u' v'$. Para formação de uma elipse, o CCT utiliza oito vetores separados por um ângulo de 45° cada. O tempo total para completar os subtestes *Trivector* e *Ellipse* 1 durou aproximadamente 12 minutos (entre seis minutos para cada; para mais detalhes, ver Almustanyir et al., 2020). Desta feita, o tempo total para completar o CCT esteve dentro do tempo do pico plasmático reportado por Russell et al. (1976). O CCT é uma tarefa cognitivamente simples e facilmente aprendida pelos participantes, gerando resultados confiáveis, amplamente difundidos e clinicamente replicáveis (Fernandes et al., 2020).

7.1.2 Procedimentos

Antes do início de cada sessão, as instruções foram fornecidas para os participantes de modo que foram instruídos a responder priorizando mais a acurácia que velocidade. As medidas foram realizadas a 300 cm da tela do monitor e os participantes foram adaptados ao escuro antes de serem testados (Fisher et al., 1970).

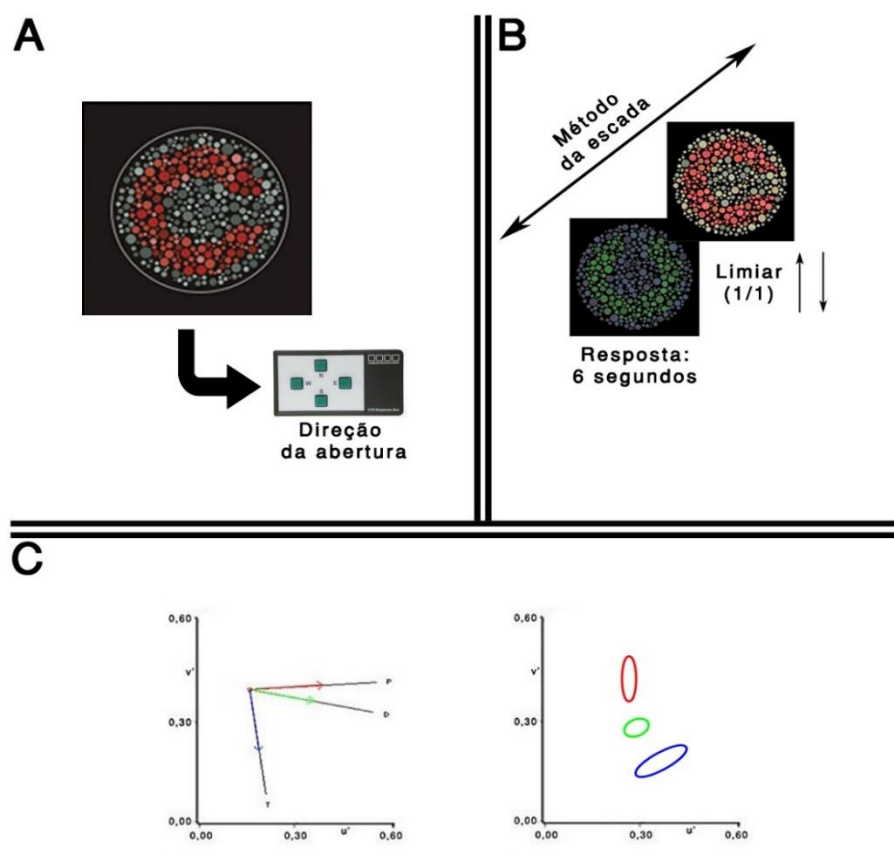
A tarefa do participante foi responder à orientação do estímulo, ou o "C" de *Landolt*, que era apresentado em uma das quatro posições da tela (Fig. 28A) (método da escolha forçada com quatro alternativas espaciais; *4-Alternative Forced Choice*). Para isto, o participante precisava pressionar um dos botões da caixa de resposta (CT6, CRS) mesmo quando não pudesse ver o estímulo. O contraste cromático do "C" de *Landolt*

variou de acordo com o fundo conforme um procedimento adaptativo, ou método da escada (Fig. 28B). As regras específicas foram: o contraste cromático era dividido pela metade a cada resposta correta (24%) e dobrado a cada resposta incorreta ou ausência de resposta (48%) até a primeira reversão (formação do primeiro limiar). É importante mencionar que o CCT utiliza um algoritmo com proporção de duas escadas intercaladas apresentadas em ordem aleatória para obter 75% de acurácia ao final do teste (Fernandes et al., 2020).

Após a primeira reversão e até o final de seis reversões (média de seis limiares para cada participante) o contraste cromático passou a aumentar ou diminuir em 8% para cada direção. Nenhum *feedback* visual ou auditório foi utilizado como elemento motivacional, uma vez que não se observa relação entre *feedback* e resposta do participante (Herzog & Fahle, 1997). O subteste finalizou após computar seis reversões para cada vetor. O limiar de discriminação cromática (em unidades u'v') foi computado como a média das cromaticidades correspondentes a esta reversão. O tempo permitido para cada resposta foi de 6 segundos. Os dois subtestes realizados no CCT foram o *Trivector* (Fig. 28C, canto inferior esquerdo) e o *Ellipse* (Fig. 28C, canto inferior direito).

Fig. 28

Diagrama de Realização do Cambridge Colour Test



Nota. O “C” de Landolt em um fundo com ruído de luminância no qual o participante precisa responder na direção da abertura (A) para que os limiares possam ser formados a partir do método da escada (B). As saídas do CCT são os subtestes *Trivector* (C, canto inferior esquerdo) e *Ellipse* (C, canto inferior direito).

7.1.3 Análise Estatística

Para a caracterização dos participantes foram utilizadas medidas de tendência central e medidas de dispersão. A distribuição dos dados foi investigada através do método *Monte Carlo* para assimetria e curtose, considerando o valor de $\pm 1,96$ como violação da normalidade (Antonius, 2003; Tabachnick & Fidell, 2007). Como não houve violação da normalidade, foram realizadas análises paramétricas. *A priori*, os dados foram plotados em gráficos e depois analisados de acordo com suas variáveis. As análises foram realizadas através do pacote estatístico SPSS 23.0 e *MATLAB* R2018b (mathworks.com).

Para comparar variáveis nominais, como gênero, o teste não paramétrico qui-quadrado (2 x 3) foi utilizado. Para o subteste *Trivector*, a análise de variância multivariada (rMANOVA) para medidas repetidas foi utilizada. É importante mencionar que a rMANOVA é uma análise robusta e flexível a pequenos tamanhos amostrais (Ates et al., 2019; Ito, 1980)

Para o subteste *Trivector*, foram consideradas três variáveis dependentes (Protan, Deutan e Tritan) e uma variável independente, dentre sujeitos, com três níveis (placebo, 2-mg ou 4-mg). Para o subteste *Ellipse*, foram consideradas quatro variáveis dependentes (área, comprimento do eixo maior, ângulo do eixo maior e proporção entre eixos) e uma variável independente, dentre sujeitos, com três níveis (placebo, 2-mg ou 4-mg). Não foram observados valores extremos (considerando a distância de *Cook*), nem violação da homogeneidade variância-covariância (Box M), nem foi observada multicolinearidade. Gênero, idade e nível de escolaridade também foram adicionados como covariáveis nos modelos de rMANOVA. O *post-hoc* para rMANOVA foi realizado considerando análises canônicas discriminantes (Antonius, 2003; Tabachnick & Fidell, 2007). O tamanho do efeito utilizado para a rMANOVA foi o *Cohen's f* e o *g* de *Hedges* para as comparações em pares, que são geralmente utilizados para reduzir vieses nos tamanhos de efeito em amostras menores (Lakens, 2013). A correção *Bonferroni* foi aplicada para evitar erros do tipo I.

O mesmo processo foi empregado para análise dos oito vetores que compuseram a *Ellipse 1* (oito variáveis dependentes; uma variável dentre sujeitos com três níveis).

A excentricidade da *Ellipse* foi calculada através: $Excentricidade = \sqrt{1 - \left(\frac{b}{a}\right)^2}$, onde a = semieixo maior, b = semieixo menor. Excentricidade é o quanto a elipse se difere de um círculo. Se igual ou próximo a menor discriminação e forte indicação de anomalia visual.

A análise de regressão escolhida foi a *bootstrapping* por ser mais apropriada a amostras pequenas devido à sua flexibilidade (Freedman, 1981). A equação geral da regressão *bootstrapping* seguiu a fórmula-padrão: $B_{r=1999} \equiv [A + B_1 x_1 + \dots B_k x_{ik}]$, e os resíduos para cada observação foram calculados baseados no erro-padrão: $E_* = A_i - \hat{A}$. Um total de 2,000 reamostragens foram utilizadas para a análise de regressão (Freedman, 1981).

Análise estatística *Bayesiana* também foi realizada (para confirmar os resultados da rMANOVA). O modelo nulo utilizado pela estatística *Bayesiana* representa ausência de diferenças. Assim, mudanças no modelo juntamente com algoritmos válidos indicam um alto grau de confiabilidade. Ainda, foram reportados os *Bayes factors*, robustez máxima e os 95% do intervalo para os efeitos da análise (δ) (Stefan et al., 2019).

Por fim, os eventos adversos foram apresentados como porcentagens em cada condição (a análise foi realizada computando 1 para presença e 0 para ausência de efeito adverso). O mesmo foi realizado para investigar a eficácia do cegamento (a razão entre os erros e as respostas corretas em relação à condição em que o participante acreditava ter sido aplicado foi utilizada como medida para cálculo nesta análise). Para essas duas análises foram utilizados o teste Q de *Cochran* (Seeger & Gabrielsson, 1968).

7.2 Resultados

7.2.1 Características da Amostra

A Tabela 10 apresenta as características biossociodemográficas dos participantes incluídos neste estudo. Em linhas gerais, os participantes tiveram idade média de 23,3 anos ($DP = 3,8$ anos) e escolaridade acima de 10 anos de estudo ($M = 14,0$; $DP = 3,3$ anos).

Tabela 10*Características Biossociodemográficas da Amostra*

Características	Participantes	(%)
<i>Total</i>	21	(100)
<i>Sexo</i>		
Masculino	12	57,1
Feminino	9	42,9
<i>Idade (anos)</i>	Média	Alcance
Masculino	23,42	(19–29)
Feminino	23,22	(19–31)
<i>Escolaridade (anos)</i>	Média	Alcance
Masculino	14,44	(13–18)
Feminino	15,34	(13–17)
<i>Peso (kg)</i>	Média	Alcance
Masculino	78,59	(58–105)
Feminino	58,99	(45–80)
<i>Altura (cm)</i>	Média	Alcance
Masculino	178,50	(167–189)
Feminino	164,64	(154–175)
<i>Índice de massa corporal</i>	Média	Alcance
Masculino	25,61	(20–30)
Feminino	2,15	(16–26)

7.2.2 Trivector

Os dados descritivos para cada uma das variáveis do subteste *Trivector* podem ser encontrados na Tabela 11. Houve diferenças entre as condições (placebo, 2-mg e 4-mg) para as três variáveis Protan, Deutan e Tritan [$F(6,76) = 19,43$, $p < ,001$, Lambda de Wilks = ,89, $f^2 = 1,15$; 95% ICs: ,92 – 1,44]. Não houve interação no modelo quando as variáveis gênero ($p = ,187$), idade ($p = ,652$), nível de escolaridade ($p = ,192$), peso ($p = ,937$), altura ($p = ,812$) e IMC ($p = ,942$) foram adicionadas.

Tabela 11

Estatísticas Descritivas do Subteste Trivector (em 10⁻⁴ unidades u'v')

N = 21	Placebo	2-mg	4-mg
Protan			
<i>M (DP)</i>	45,33 (8,72)	41,19 (6,08)	36,86 (5,80)
<i>Med (IIQ/2)</i>	46,00 (14,50)	41,00 (12,50)	35,00 (1,50)
<i>Var</i>	75,93	37,06	57,15
<i>Assim</i>	-,29	-,12	-,14
<i>Curt</i>	1,01	1,08	-1,02
Deutan			
<i>M (DP)</i>	44,38 (7,56)	37,82 (4,70)	31,82 (6,50)
<i>Med (IIQ/2)</i>	46,00 (14,50)	38,00 (1,00)	55,00 (12,50)
<i>Var</i>	57,15	22,06	42,14
<i>Assim</i>	,70	,62	,33
<i>Curt</i>	-,25	-,76	-,06
Tritan			
<i>M (DP)</i>	56,33 (6,50)	43,76 (6,41)	38,33 (6,80)
<i>Med (IIQ/2)</i>	55,00 (12,50)	45,00 (1,50)	38,00 (15,50)
<i>Var</i>	42,13	42,13	46,33
<i>Assim</i>	,33	-,04	,57
<i>Curt</i>	-,07	-1,04	-1,35

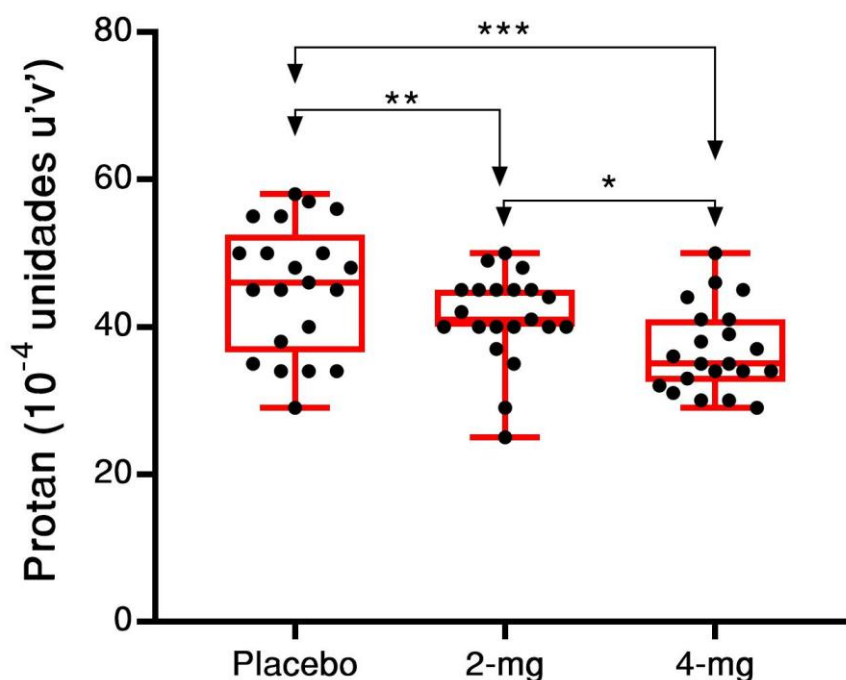
Nota. Os dados apresentados correspondem à Média (M) Desvio-Padrão (DP), Mediana (Med), Intervalo Semi-Interquartil (IIQ), Variância (Var), Assimetria (Assi) e Curtose (Curt).

Protan

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor desempenho quando comparado ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = ,012$, g de *Hedges* = ,63; 95% ICs: ,18 – 1,16), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p = ,001$, g de *Hedges* = 1,12; 95% ICs: ,22 – 1,49). Houve maior desempenho quando comparada a goma de nicotina contendo 4-mg com a goma contendo 2-mg ($p = ,033$, g de *Hedges* = ,49; 95% ICs: ,12 – 1,10). Os principais resultados para o eixo de confusão Protan estão apresentados na Fig. 29.

Fig. 29

Boxplots para o Eixo de Confusão Protan



Nota. Os dados estão apresentados em 10^{-4} unidades $u'v'$ do diagrama de cores CIE 1976. Cada *boxplot* corresponde aos dados dos participantes para as condições placebo, 2-mg e de 4-mg. As linhas centrais representam a mediana, as caixas representam a amplitude, e as extremidades das caixas representam os limites (máxima e mínima).

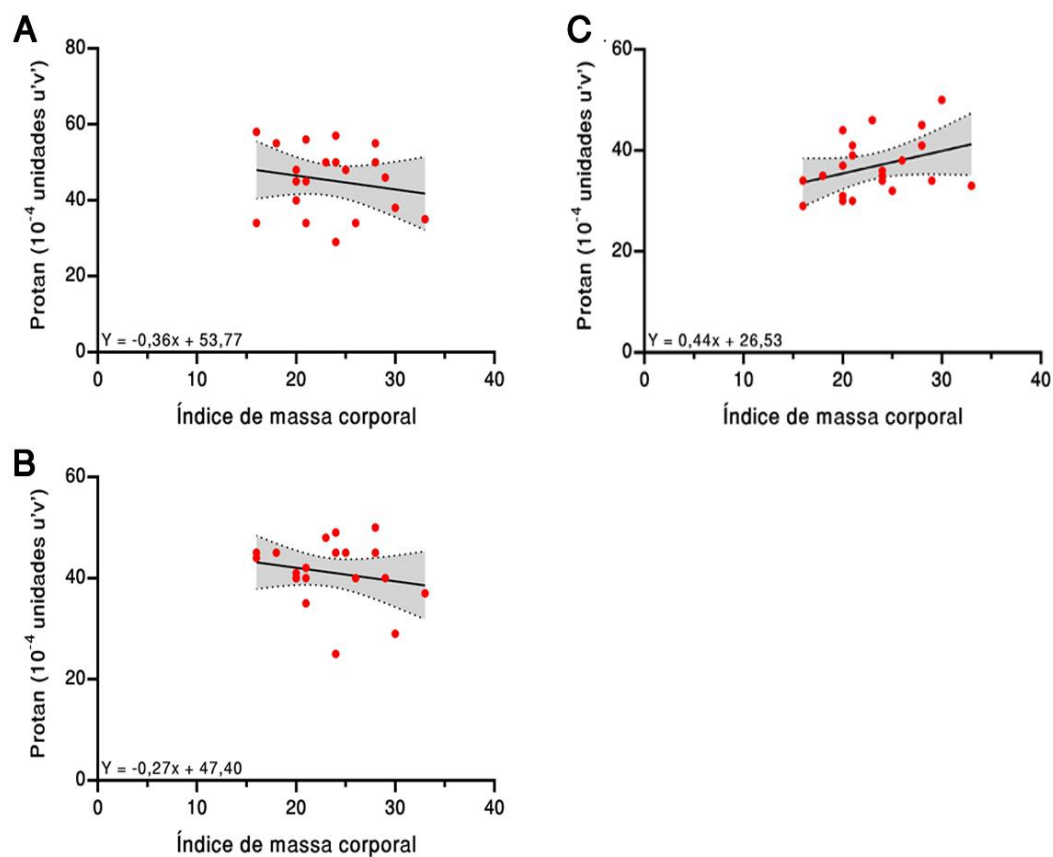
A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela *rrMANOVA*. A porcentagem de erro foi $<0,001\%$ indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 25,25$, $\delta = ,47$; com um intervalo de 95% para δ de $(,32 - ,60)$]. As comparações *post-hoc* da estatística *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 4,19$; probabilidade *a posteriori* = 2,47), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 18,03$, probabilidade *a posteriori* = 1,60) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 1,87$, probabilidade *a posteriori* = 1,10)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para Protan ($p > ,05$). Considerando

que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições. Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados do Protan para placebo [$F(3, 17) = 2,52, p = ,092, R^2 \text{ ajustado} = ,18$; ($\beta \text{ peso} = ,15, EPM = ,12$), ($\beta \text{ altura} = ,2, EPM = ,18$), ($\beta \text{ IMC} = ,29, EPM = ,20$)], 2-mg [$F(3, 17) = 1,29, p = ,309, R^2 \text{ ajustado} = ,04$; ($\beta \text{ peso} = ,14, EPM = ,50$), ($\beta \text{ altura} = ,29, EPM = ,80$), ($\beta \text{ IMC} = ,38, EPM = ,62$)], e 4-mg [$F(3, 17) = 2,52, p = ,12, R^2 \text{ ajustado} = ,19$; ($\beta \text{ peso} = ,14, EPM = ,12$), ($\beta \text{ altura} = ,37, EPM = ,18$), ($\beta \text{ IMC} = ,49, EPM = ,20$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). Peso e altura precisaram ser adicionados ao modelo de regressão para investigar se teriam influência separada ou em conjunto com o IMC. No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, e o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 30.

Fig. 30

Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Eixo de Confusão Protan para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

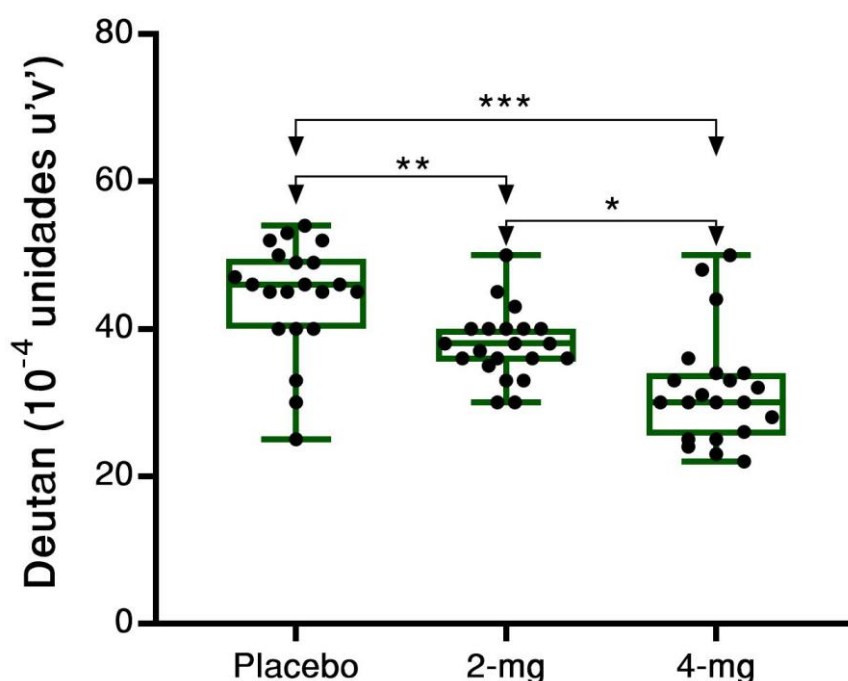
Deutan

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor desempenho quando comparado ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p = ,003$, g de *Hedges* = ,73; 95% ICs: ,14 – 1,23), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p < ,001$, g de *Hedges* = 1,36; 95% ICs: ,70 – 2,06). Houve maior desempenho quando comparada a goma de nicotina contendo 4-mg

com a goma contendo 2-mg ($p = ,015$, g de *Hedges* = ,60; 95% ICs: ,14 – 1,40). Os principais resultados para o eixo de confusão Deutan estão apresentados na Fig. 31.

Fig. 31

Boxplots para o Eixo de Confusão Deutan



Nota. Os dados estão apresentados em 10^{-4} unidades $u'v'$ do diagrama de cores CIE 1976. Cada *boxplot* corresponde aos dados dos participantes para as condições placebo, 2-mg e de 4-mg. As linhas centrais representam a mediana, as caixas representam a amplitude e as extremidades das caixas representam os limites (máxima e mínima).

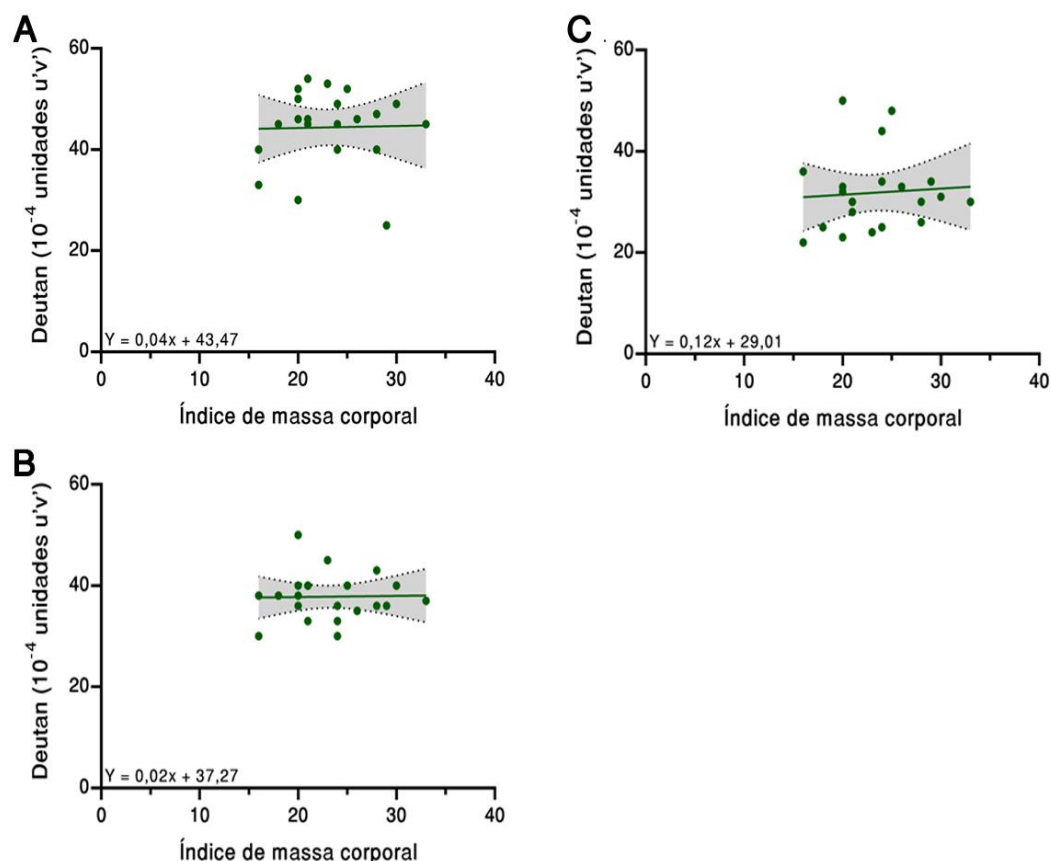
A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela *rrMANOVA*. A porcentagem de erro foi <001% indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 52,9$, $\delta = ,86$; com um intervalo de 95% para δ de (,54 – ,97)]. As comparações *post-hoc* da estatística *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 13,70$; probabilidade *a posteriori* = 8,04), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 49,19$, probabilidade *a posteriori* = 29,14) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 3,7$, probabilidade *a posteriori* = 2,16)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para Deutan ($p > ,05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições.

Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados do Deutan para placebo [$F(3, 17) = ,29, p = ,842, R^2 \text{ ajustado} = ,05$; ($\beta \text{ peso} = ,01, EPM = ,01$), ($\beta \text{ altura} = ,6, EPM = ,20$), ($\beta \text{ IMC} = ,28, EPM = ,06$)], 2-mg [$F(3, 17) = ,76, p = ,53, R^2 \text{ ajustado} = ,12$; ($\beta \text{ peso} = ,01, EPM = ,01$), ($\beta \text{ altura} = ,17, EPM = ,11$), ($\beta \text{ IMC} = ,55, EPM = ,32$)], e 4-mg [$F(3, 17) = ,29, p = ,829, R^2 \text{ ajustado} = ,05$; ($\beta \text{ peso} = ,01, EPM = ,01$), ($\beta \text{ altura} = ,16, EPM = ,22$), ($\beta \text{ IMC} = ,23, EPM = ,06$)]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 32.

Fig. 32

Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Eixo de Confusão Deutan para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

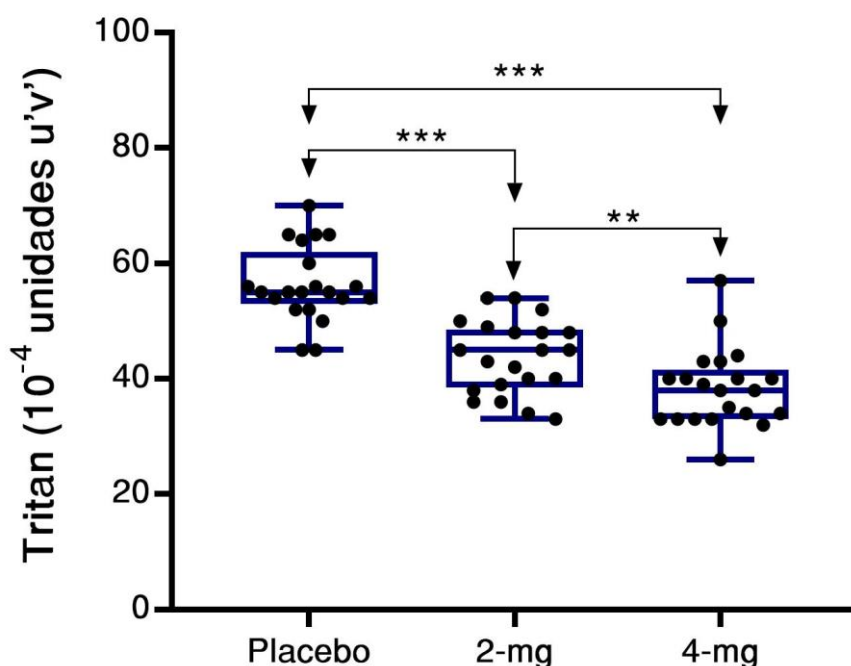
Tritan

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor desempenho quando comparado ao consumo da goma de nicotina contendo 2-mg ($p < ,001$, g de *Hedges* = 1,15; 95% ICs: ,49 – 1,80), e da goma de nicotina contendo 4-mg ($p < ,001$, g de *Hedges* = 1,90; 95% ICs: 1,21 – 2,67). Houve maior desempenho quando comparada a goma de nicotina contendo 4-mg

com a goma contendo 2-mg ($p = ,011$, g de *Hedges* = ,61; 95% ICs: ,12 – 1,24). Os principais resultados para o eixo de confusão Tritan estão apresentados na Fig. 33.

Fig. 33

Boxplots para o Eixo de Confusão Tritan



Nota. Os dados estão apresentados em 10^{-4} unidades u'v' do diagrama de cores CIE 1976. Cada *boxplot* corresponde aos dados dos participantes para as condições placebo, 2-mg e de 4-mg. As linhas centrais representam a mediana, as caixas representam a amplitude, e as extremidades das caixas representam os limites (máxima e mínima).

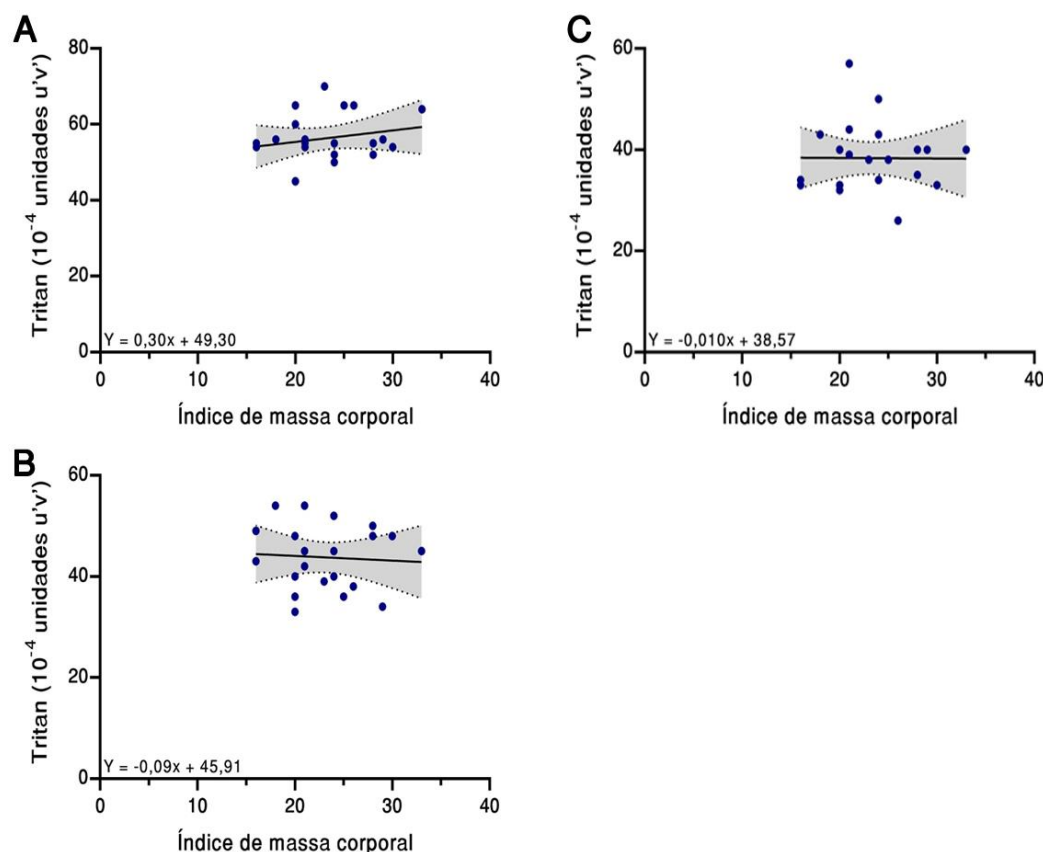
A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi <,001% indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 74,8$, $\delta = ,78$; com um intervalo de 95% para δ de (,58 – ,89)]. As comparações *post-hoc* da estatística *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 61,67$; probabilidade *a posteriori* = 41,04), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 58,52$, probabilidade *a posteriori* = 29,09) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 4,56$, probabilidade *a posteriori* = 2,67)].

Análise de Correlação e Regressão. Não foram encontradas correlações entre as variáveis biossociodemográficas e os resultados para Tritan ($p > ,05$). Considerando que o tamanho amostral não seria ideal para conduzir uma regressão multivariada dentre placebo, 2-mg e 4-mg, foram realizadas três diferentes análises de regressão utilizando peso, altura e IMC como preditores para cada uma das condições.

Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados do Tritan para placebo [$F(3, 17) = 1,7, p = ,204, R^2 \text{ ajustado} = ,04; (\beta \text{ peso} = ,01, EPM = ,01), (\beta \text{ altura} = ,6, EPM = ,20), (\beta \text{ IMC} = ,43, EPM = 3,55)$], 2-mg [$F(3, 17) = ,76, p = ,53, R^2 \text{ ajustado} = ,11; (\beta \text{ peso} = ,01, EPM = ,01), (\beta \text{ altura} = ,18, EPM = ,12), (\beta \text{ IMC} = 4,65, EPM = 3,32)$], e 4-mg [$F(3, 17) = ,3, p = ,829, R^2 \text{ ajustado} = ,04; (\beta \text{ peso} = ,01, EPM = ,02), (\beta \text{ altura} = ,14, EPM = ,20), (\beta \text{ IMC} = 2,8, EPM = 4,07)$]. De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores). No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 34.

Fig. 34

Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Eixo de Confusão Tritan para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Apesar de a análise de regressão não ter indicado diferenças com e sem a presença do IMC, optamos por apresentar as imagens de regressão contando em cada um dos tópicos (i.e., para Protan, Deutan e Tritan), uma vez que esta era uma das variáveis de desfecho do estudo.

7.2.3 Ellipse

Houve diferenças entre as condições (placebo, 2-mg e 4-mg) para as quatro variáveis da *Ellipse 1* [$F(8,74) = 3,32$, $p = ,02$, Lambda de Wilks = ,35, $f = ,47$; 95%

ICs: ,26 – ,70]. Não houve interação em nenhum dos três modelos quando as variáveis gênero, idade, nível de escolaridade, peso, altura e IMC foram adicionadas ($p > ,05$). Os dados descritivos para a *Ellipse 1* são apresentados na Tabela 12, englobando os quatro parâmetros principais, juntamente ao semieixo maior e semieixo menor (parâmetros calculados à parte para fórmula da excentricidade).

Tabela 12

Estatísticas Descritivas dos Parâmetros do Subteste Ellipse.

N = 21	Placebo	2-mg	4-mg
Área*			
<i>M (DP)</i>	82,15 (37,27)	57,79 (2,78)	41,64 (14,87)
<i>Med (IIQ/2)</i>	8,00 (36,00)	49,55 (33,30)	39,76 (38,48)
<i>Var</i>	1389,70	417,30	221,19
<i>Assim</i>	,94	-,52	,90
<i>Curt</i>	1,26	1,12	1,57
Comprimento do eixo maior*			
<i>M (DP)</i>	15,62 (62,70)	107,80 (24,22)	92,10 (2,80)
<i>Med (IIQ/2)</i>	149,00 (12,40)	1,00 (45,00)	8,00 (1,50)
<i>Var</i>	,01	,01	,01
<i>Assim</i>	,52	,73	,67
<i>Curt</i>	,28	-,01	1,30
Semieixo maior*			
<i>M (DP)</i>	76,72 (3,60)	53,57 (12,05)	44,04 (12,90)
<i>Med (IIQ/2)</i>	74,50 (3,00)	5,00 (22,50)	4,00 (27,50)
<i>Var</i>	,01	,01	,01
<i>Assim</i>	,82	1,11	1,16
<i>Curt</i>	,98	1,20	1,45
Semieixo menor*			
<i>M (DP)</i>	47,98 (32,37)	32,97 (68,41)	28,84 (1,50)
<i>Med (IIQ/2)</i>	42,20 (47,50)	32,41 (15,80)	27,34 (27,50)
<i>Var</i>	,01	,01	,01
<i>Assim</i>	1,20	1,20	1,14
<i>Curt</i>	-,18	-,14	,39
Proporção entre eixos			
<i>M (DP)</i>	1,72 (,31)	1,60 (,23)	1,59 (,23)
<i>Med (IIQ/2)</i>	1,59 (,65)	1,56 (,44)	1,59 (,65)

<i>Var</i>	,10	,06	,11
<i>Assim</i>	1,21	1,24	1,54
<i>Curt</i>	,97	-,74	,49
Ângulo			
<i>M (DP)</i>	8,53 (18,29)	157,29 (229,09)	198,11 (47,65)
<i>Med (IIQ/2)</i>	84,50 (42,50)	10,45 (454,01)	167,00 (75,5)
<i>Var</i>	334,54	5248,87	227,36
<i>Assim</i>	,94	-1,74	-,40
<i>Curt</i>	1,06	,99	1,20

Nota: Em 10^{-5} unidades $u'v'$. Os dados apresentados correspondem à Média (M), Desvio-padrão (DP), Mediana (Med), Intervalo semi-interquartil (IIQ), Variância (Var), Assimetria (Assi) e Curtose (Curt)

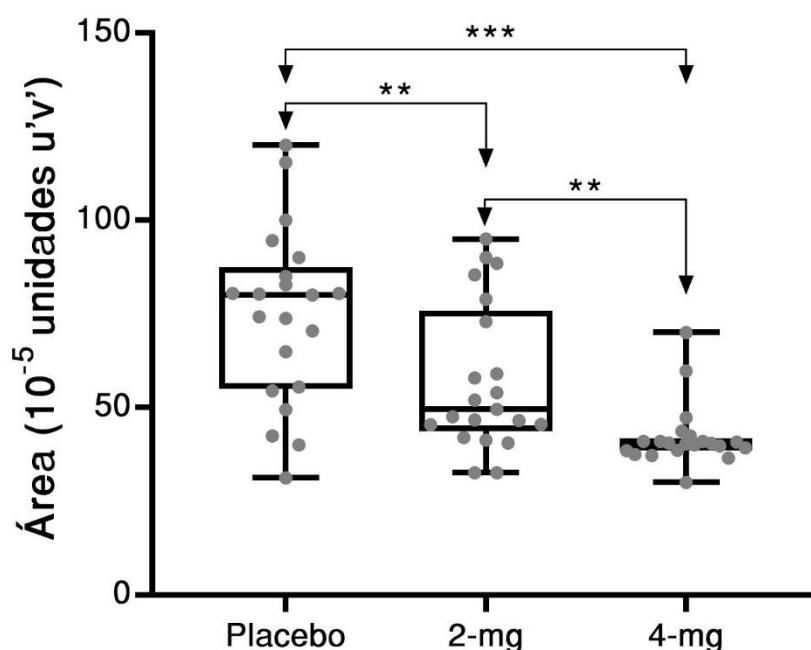
Área

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em menor discriminação (i.e., maior elipse) quando os participantes consumiram gomas contendo 2-mg ($p = ,015$, g de *Hedges* = ,58; 95% ICs: ,08 – 1,14) ou 4-mg de nicotina ($p < ,001$, g de *Hedges* = 1,33; 95% ICs: ,37 – 1,67). Houve menor discriminação (i.e., maior elipse) quando os participantes fizeram uso de 2-mg que quando fizeram uso da goma contendo 4-mg de nicotina ($p = ,008$, g de *Hedges* = ,80; 95% ICs: ,01 – 1,25). Os resultados podem ser vistos com detalhes na Fig. 35.

A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi <,004% indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 85,57$, $\delta = ,43$; com um intervalo de 95% para δ de (,32 – ,54)]. As comparações *post-hoc* da estatística *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 3,53$; probabilidade *a posteriori* = 2,07), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 37,2$, probabilidade *a posteriori* = 21,26) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 21,57$, probabilidade *a posteriori* = 12,67)].

Fig. 35

Boxplots para a Área da Elipse



Nota. Os dados estão apresentados em 10^{-5} unidades $u'v'$ do diagrama de cores CIE 1976. Cada *boxplot* corresponde aos dados dos participantes para as condições placebo, 2-mg e de 4-mg. As linhas centrais representam a mediana, as caixas representam a amplitude, e as extremidades das caixas representam os limites (máxima e mínima).

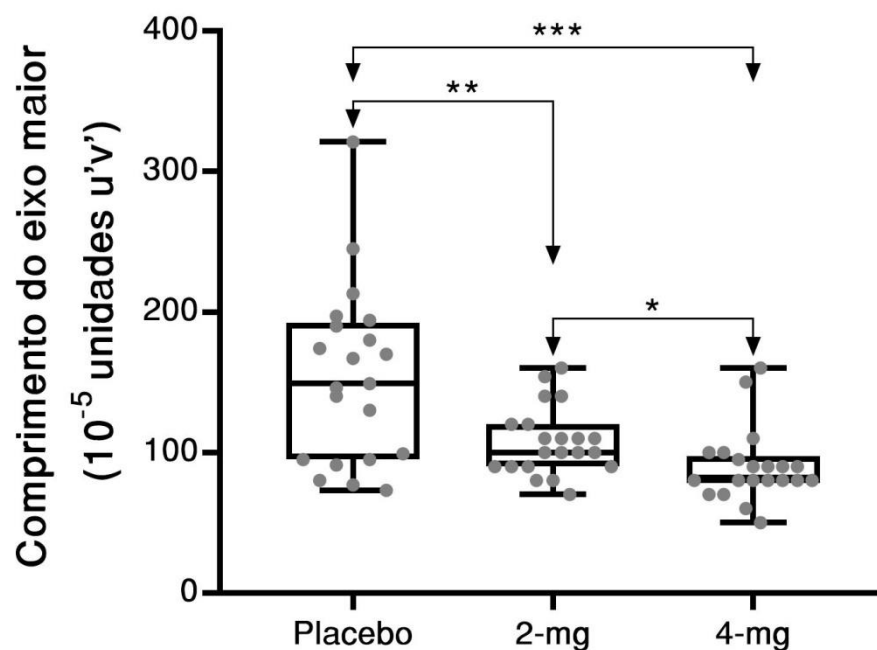
Comprimento do Eixo Maior

Análises *post-hoc* (análises discriminantes canônicas) mostraram que o consumo da goma placebo resultou em maior comprimento da *Ellipse 1* quando comparado aos comprimentos das elipses conforme os participantes consumiram gomas contendo 2-mg ($p = ,011$, g de *Hedges* = ,57; 95% ICs: ,18 – 1,06) ou 4-mg de nicotina ($p < ,001$, g de *Hedges* = 1,21; 95% ICs: ,29 – 1,56). Houve menor comprimento para a elipse dos participantes que fizeram uso de 4-mg que para os que fizeram uso da goma contendo 2-mg de nicotina ($p = ,033$, g de *Hedges* = ,49; 95% ICs: ,10 – 1,12). Os resultados podem ser vistos com detalhes na Fig. 36.

A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi $<0,006\%$ indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 52,85$, $\delta = ,45$; com um intervalo de 95% para δ de $(,33 - ,57)$]. As comparações *post-hoc* da estatística *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg > placebo; $BF_{10} = 4,30$; probabilidade *a posteriori* = 2,52), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 57,76$, probabilidade *a posteriori* = 29,13) e (4-mg > 2-mg; $BF_{10} = 1,82$, probabilidade *a posteriori* = 1,06)].

Fig. 36

Boxplots para o Comprimento do Eixo Maior da Elipse



Nota. Os dados estão apresentados em 10^{-5} unidades $u'v'$ do diagrama de cores CIE 1976. Cada *boxplot* corresponde aos dados dos participantes para as condições placebo, 2-mg e de 4-mg. As linhas centrais representam a mediana, as caixas representam a amplitude, e as extremidades das caixas representam os limites (máxima e mínima).

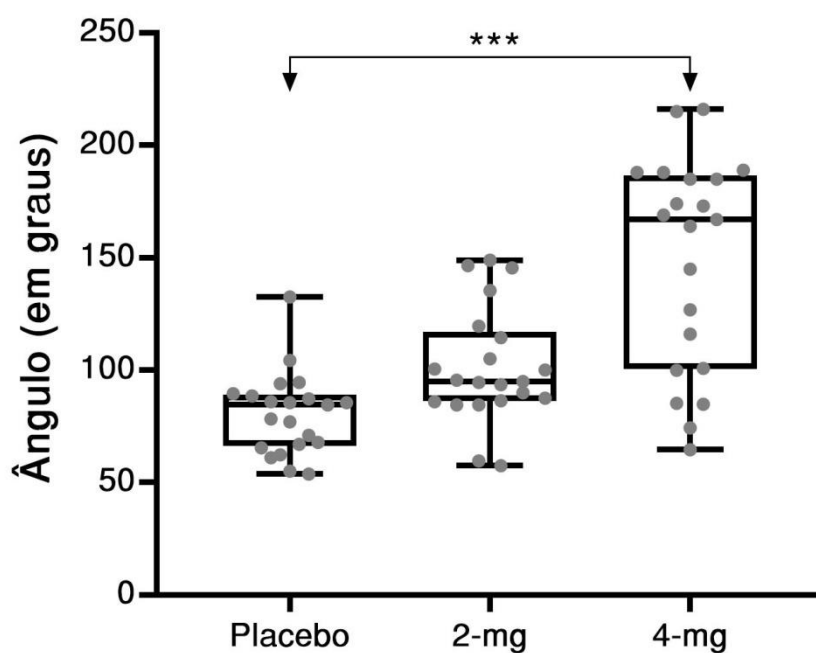
Ângulo do Eixo Maior

O ângulo da *Ellipse* diferiu conforme as diferenças entre dosagens, indicando uma rotação mais acentuada ao verde e azul. Os resultados podem ser vistos com detalhe na Fig. 37.

A análise *Bayesiana* confirmou os resultados obtidos pela rrMANOVA. A porcentagem de erro foi $< ,001\%$ indicando alta estabilidade do algoritmo utilizado para obter os resultados [$BF_{10} = 1,42$, $\delta = ,85$; com um intervalo de 95% para δ de $(,74 - ,94)$]. As comparações *post-hoc* da estatística *Bayesiana* indicaram o mesmo padrão [(2-mg = placebo; $BF_{10} = ,21$; probabilidade *a posteriori* = $,12$), (4-mg > placebo; $BF_{10} = 95,98$, probabilidade *a posteriori* = $43,63$) e (2-mg = 4-mg; $BF_{10} = ,23$, probabilidade *a posteriori* = $,13$)].

Fig. 37

Boxplots para o Ângulo do Eixo Maior da Elipse



Nota. Os dados estão apresentados em unidades u^*v^* do diagrama de cores CIE 1976.

Cada boxplot corresponde aos dados dos participantes para as condições placebo, 2-mg e de 4-mg. As linhas centrais representam a mediana, as caixas representam a amplitude, e as extremidades das caixas representam os limites (máxima e mínima).

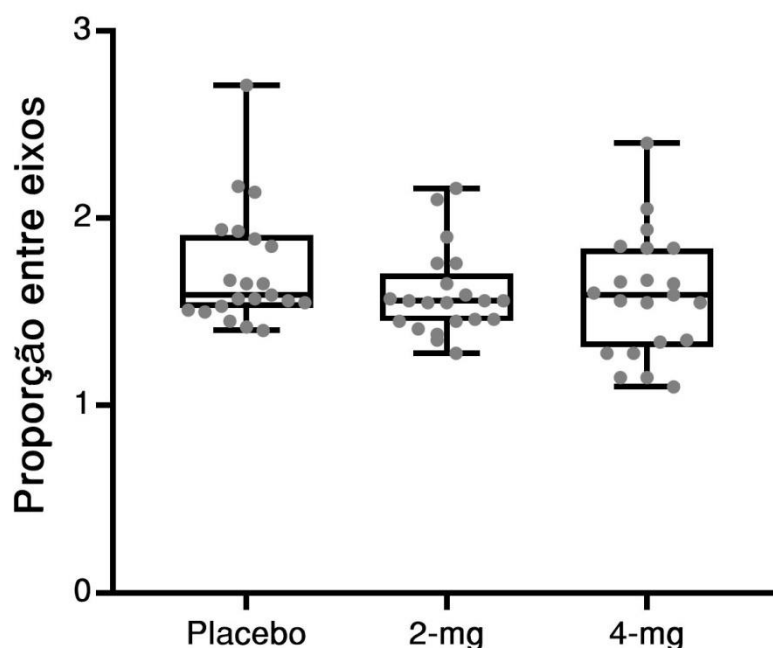
Proporção Entre Eixos

Não houve diferenças para a proporção entre os eixos. Houve uma leve redução ao fazer uso da goma de nicotina, mas sem significância estatística [$F(2,19) = 1,56$, $p = ,235$, Lambda de *Wilks* = 1,56]. Esses resultados estão condizentes com o esperado.

Conforme hipótese de pesquisa, esperava-se redução do tamanho da elipse, a proporção entre os eixos reduz a distância euclidiana entre o semieixo maior e o semieixo menor, achatando a elipse. Desta feita, esses resultados são favoráveis à nossa hipótese. Os resultados podem ser vistos com detalhe na Fig. 38.

Fig. 38

Boxplots da Proporção Entre os Eixos da Elipse



Análise de Correlação e Regressão. As únicas correlações encontradas entre os parâmetros da *Ellipse 1* e as variáveis biossociodemográficas foram para a condição contendo 2-mg de nicotina: comprimento do maior eixo x nível de escolaridade [$r = -,44, p = ,046 (-,010 - ,732)$]; ângulo x idade [$r = ,437, p = ,048 (,731 - ,006)$]; e ângulo x altura [$r = -,446, p = ,043 (-,018 - -,736)$]. Após comunicação com alguns teóricos, não achamos evidências de que essas correlações tenham ligação com elementos fisiológicos da nicotina ou com aspectos outros além de serem correlações ao acaso devido à ausência de comprovação que variáveis específicas da *Ellipse* possam ter correlação com altura ou outras características biológicas que não influenciam a discriminação de cores.

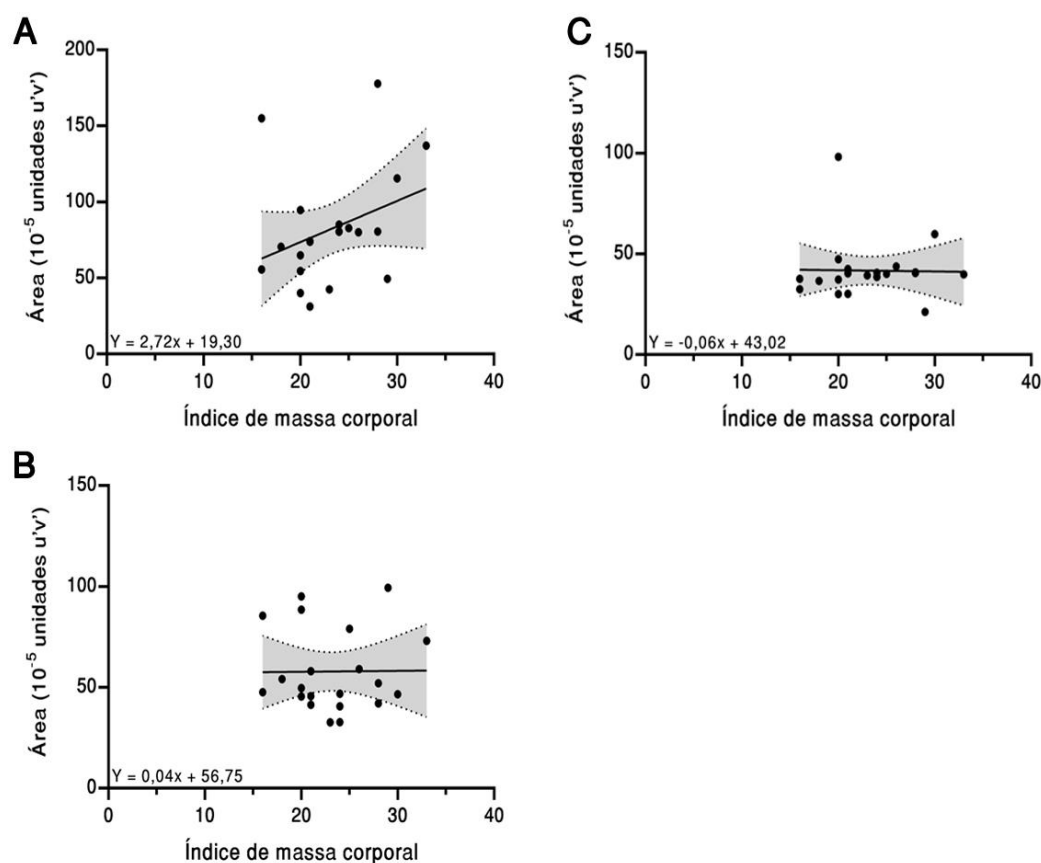
Área

Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados para placebo [$F(3, 17) = ,33, p = ,805, R^2 \text{ ajustado} = ,05; (\beta \text{ peso} = ,04, EPM = ,05), (\beta$

altura = ,02, $EPM = ,82$), (β IMC = ,12, $EPM = ,17$), 2-mg [$F(3, 17) = ,47$, $p = ,407$, R^2 ajustado = ,08; (β peso = ,08, $EPM = ,23$), (β altura = ,09, $EPM = ,17$), (β IMC = ,19, $EPM = ,72$)], e 4-mg [$F(3, 17) = ,25$, $p = ,86$, R^2 ajustado = ,04; (β peso = ,03, $EPM = ,02$), (β altura = ,25, $EPM = ,01$), (β IMC = ,001, $EPM = ,07$)]. No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 39.

Fig. 39

Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Área da Elipse para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



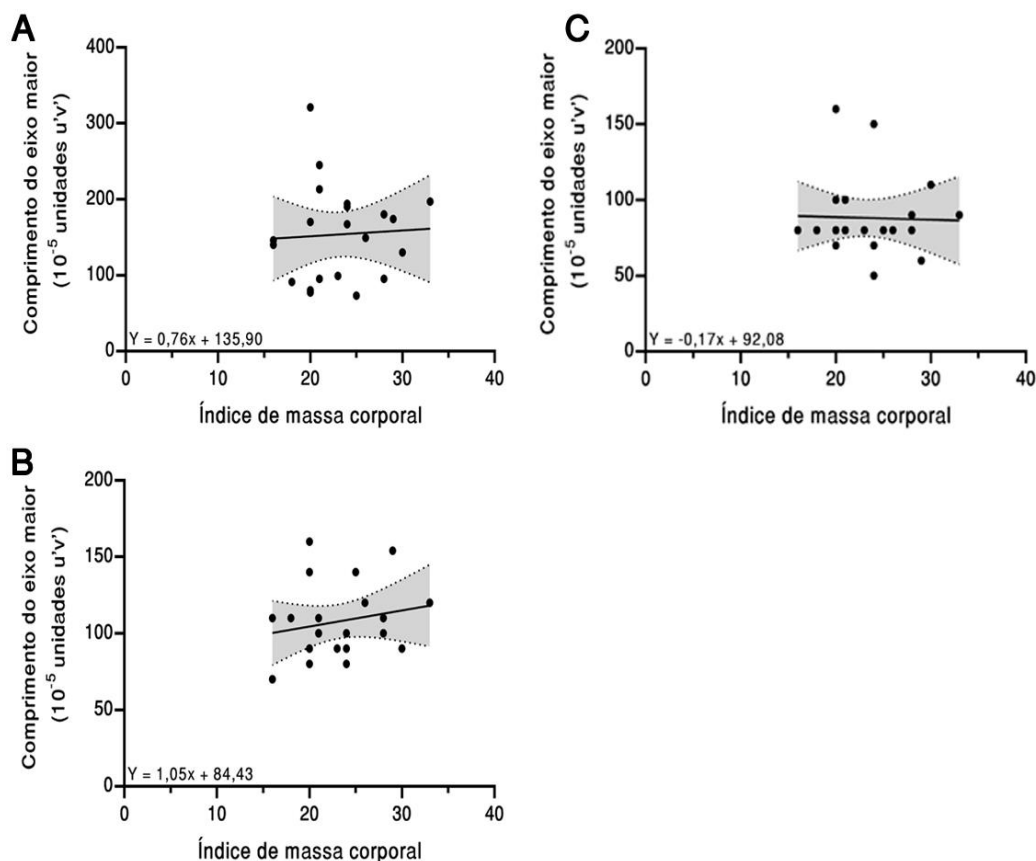
Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Comprimento do Eixo Maior

Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados para placebo [$F(3, 17) = ,84, p = ,492, R^2 \text{ ajustado} = ,02$; ($\beta \text{ peso} = ,62, EPM = ,02$), ($\beta \text{ altura} = ,34, EPM = ,59$), ($\beta \text{ IMC} = ,74, EPM = ,01$)], 2-mg [$F(3, 17) = ,76, p = ,528, R^2 \text{ ajustado} = ,12$; ($\beta \text{ peso} = ,41, EPM = ,56$), ($\beta \text{ altura} = ,4, EPM = ,33$), ($\beta \text{ IMC} = ,43, EPM = ,01$)], e 4-mg [$F(3, 17) = ,82, p = ,498, R^2 \text{ ajustado} = ,02$; ($\beta \text{ peso} = ,32, EPM = ,04$), ($\beta \text{ altura} = ,5, EPM = ,54$), ($\beta \text{ IMC} = ,01, EPM = ,01$)]. No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 40.

Fig. 40

Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Comprimento do Eixo Maior da Elipse para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



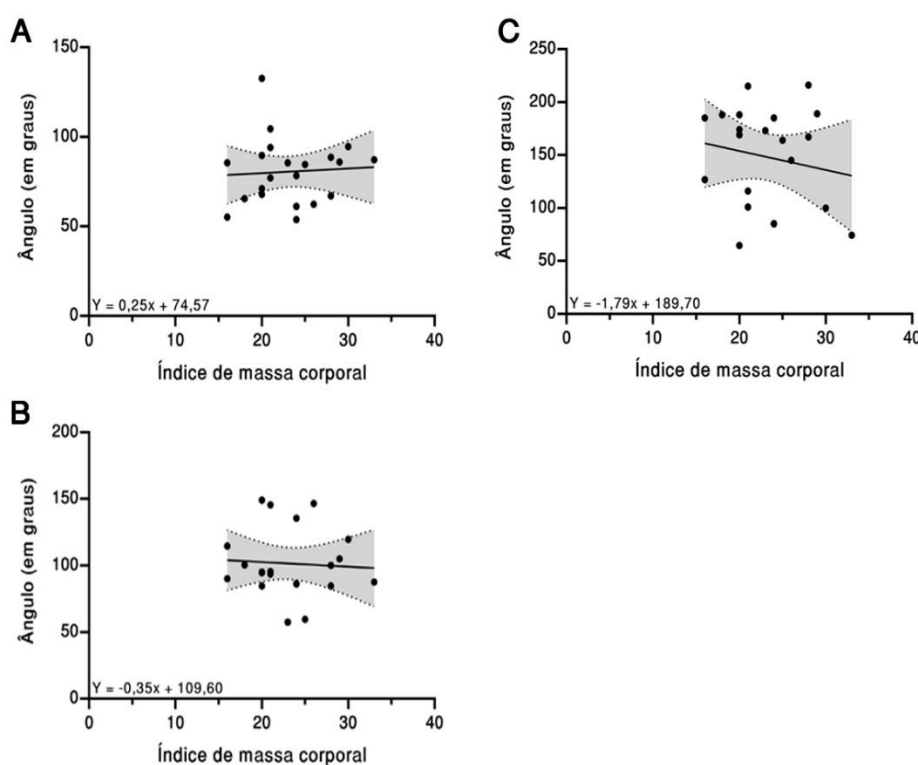
Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Ângulo do Eixo Maior

Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados para placebo [$F(3, 17) = 1,38, p = ,282, R^2 \text{ ajustado} = ,05; (\beta \text{ peso} = ,1, EPM = 3,28), (\beta \text{ altura} = ,89, EPM = 2,40), (\beta \text{ IMC} = 1,63, EPM = 5,22)$], 2-mg [$F(3, 17) = 1,57, p = ,232, R^2 \text{ ajustado} = ,08; (\beta \text{ peso} = ,7, EPM = ,65), (\beta \text{ altura} = ,12, EPM = ,70), (\beta \text{ IMC} = ,18, EPM = ,04)$], e 4-mg [$F(3, 17) = 2,0, p = ,152, R^2 \text{ ajustado} = ,12; (\beta \text{ peso} = 3,25, EPM = 8,21), (\beta \text{ altura} = 1,7, EPM = 6,00), (\beta \text{ IMC} = 2,0, EPM = 5,54)$]. No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 41.

Fig. 41

Correlações entre Índice de Massa Corporal e o Ângulo do Eixo Maior da Elipse para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



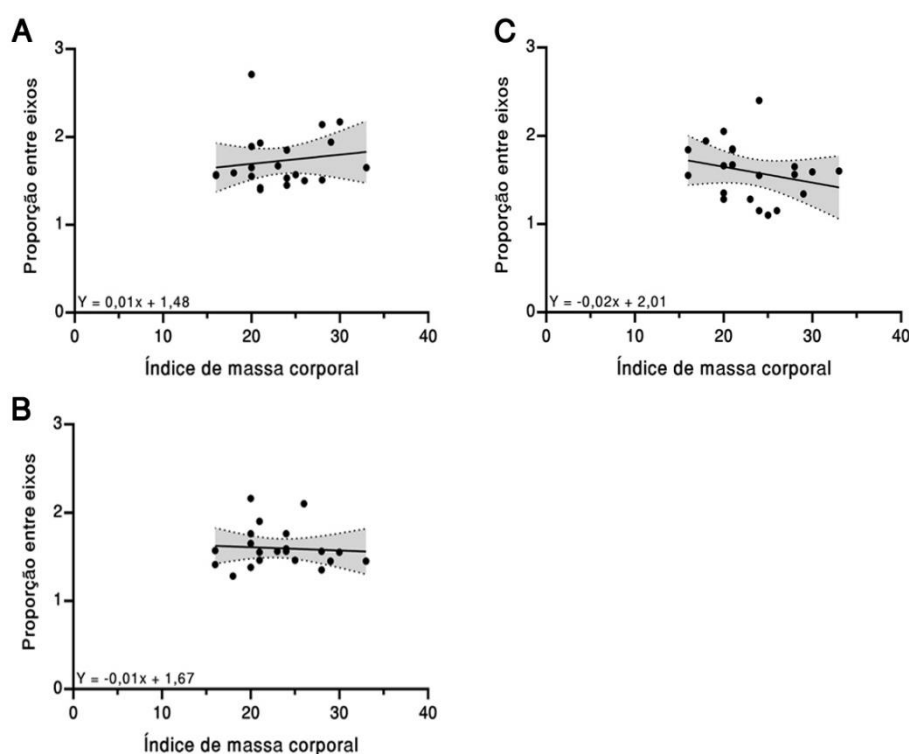
Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

Proporção Entre os Eixos

Não houve influência de peso, altura e IMC como preditores dos resultados para placebo [$F(3, 17) = 1,12$, $p = ,368$, R^2 ajustado = ,01; (β peso = ,05, $EPM = ,05$), (β altura = ,04, $EPM = ,04$), (β IMC = ,13, $EPM = ,18$)], 2-mg [$F(3, 17) = ,62$, $p = ,61$, R^2 ajustado = ,06; (β peso = ,02, $EPM = ,04$), (β altura = ,02, $EPM = ,03$), (β IMC = ,05, $EPM = ,13$)], e 4-mg [$F(3, 17) = 1,99$, $p = ,154$, R^2 ajustado = ,12; (β peso = ,04, $EPM = ,04$), (β altura = ,02, $EPM = ,03$), (β IMC = ,18, $EPM = ,15$)]. No entanto, como o IMC é um dos desfechos secundários, o resultado da correlação e regressão pode ser visto na Fig. 42.

Fig. 42

Correlações entre Índice de Massa Corporal e a Proporção entre os Eixos da Elipse para as Condições Placebo (A), 2-mg (B) e 4-mg (C)



Nota. A linha sólida representa o ajuste do mínimo quadrado para a regressão. As linhas tracejadas representam os intervalos de 95% confiança de predição dentro do espaço sombreado.

De modo breve, isto indica que os resultados não sofreriam influência caso altura, peso e IMC fossem ou não levados em consideração (i.e., preditores).

7.2.3.1 Análises Adicionais. Como análises adicionais para a *Ellipse 1*, optamos por verificar a excentricidade (i.e., o quanto a elipse pode estar mais próxima a um círculo que a uma elipse) e por verificar os oito vetores (i.e., para compor uma elipse, oito vetores separados por 45° são utilizados) para as três condições.

Excentricidade

Os resultados indicaram que não houve diferenças entre as excentricidades das elipses para as três condições [$F(2,40) = 2,13, p = ,136$]. Isto indica que por mais que exista redução no tamanho das elipses para as três condições, continuam tendo formato de elipse e não de círculo. Esses dados corroboram mais uma vez com a ideia de ausência de efeito chão (*floor*) ou efeito teto (*ceiling*) dos resultados.

Análise dos Oito Vetores

Os dados descritivos para os oito vetores estão descritos na Tabela 13. Os resultados indicaram que houve diferenças para os vetores correspondentes a 0° [$F(2,40) = 25,9, p < ,001$], 45° [$F(2,40) = 8,72, p < ,001$], 90° [$F(2,40) = 14,92, p < ,001$], 135° [$F(2,40) = 85,62, p < ,001$], 180° [$F(2,40) = 58,07, p < ,001$], 225° [$F(2,40) = 37,0, p < ,001$], 270° [$F(2,40) = 78,94, p < ,001$] e 315° [$F(2,40) = 8,85, p < ,001$].

Tabela 13

Estatísticas Descritivas Das Medidas de Cada Vetor (em Graus) da Ellipse 1

<i>N = 21</i>	<i>Placebo</i>	<i>2-mg</i>	<i>4-mg</i>
----------------------	-----------------------	--------------------	--------------------

Vetor 0°			
<i>M (DP)</i>	55,43 (4,63)	45,15 (2,89)	35,62 (5,62)
<i>Med (IIQ/2)</i>	55,00 (8,50)	45,00 (5,50)	35,00 (13,50)
<i>Var</i>	21,45	8,33	34,35
<i>Assim</i>	,18	-,52	,90
<i>Curt</i>	1,28	1,12	1,57
Vetor 45°			
<i>M (DP)</i>	64,57 (6,70)	52,95 (5,48)	44,57 (1,04)
<i>Med (IIQ/2)</i>	62,00 (14,00)	55,00 (1,50)	46,00 (18,50)
<i>Var</i>	44,85	3,06	10,76
<i>Assim</i>	,52	,73	,67
<i>Curt</i>	,28	-,01	01,03
Vetor 90°			
<i>M (DP)</i>	55,57 (5,85)	41,90 (3,37)	33,43 (5,76)
<i>Med (IIQ/2)</i>	55,00 (12,00)	43,00 (7,50)	33,00 (12,00)
<i>Var</i>	34,25	11,39	33,25
<i>Assim</i>	,62	1,04	,82
<i>Curt</i>	,25	,78	1,45
Vetor 135°			
<i>M (DP)</i>	5,80 (6,45)	39,48 (6,17)	29,09 (5,54)
<i>Med (IIQ/2)</i>	49,00 (12,00)	38,00 (9,50)	28,00 (9,50)
<i>Var</i>	41,66	38,06	3,80
<i>Assim</i>	-,76	-,89	-,52
<i>Curt</i>	,62	,53	,46
Vetor 180°			
<i>M (DP)</i>	57,00 (5,09)	44,00 (4,61)	34,14 (4,52)
<i>Med (IIQ/2)</i>	54,00 (12,50)	42,00 (9,50)	35,00 (1,00)
<i>Var</i>	25,90	21,30	2,33
<i>Assim</i>	1,21	1,24	1,54
<i>Curt</i>	,97	-,74	,49
Vetor 225°			
<i>M (DP)</i>	62,33 (4,80)	49,38 (3,38)	42,11 (3,39)
<i>Med (IIQ/2)</i>	62,00 (1,00)	5,00 (6,00)	43,00 (19,00)
<i>Var</i>	23,03	11,45	72,53
<i>Assim</i>	,94	-1,02	-,40
<i>Curt</i>	1,06	,80	1,20
Vetor 270°			
<i>M (DP)</i>	57,90 (9,33)	42,14 (5,63)	36,06 (3,45)
<i>Med (IIQ/2)</i>	57,00 (19,50)	45,00 (8,50)	35,00 (19,50)
<i>Var</i>	87,19	32,73	89,35
<i>Assim</i>	,80	,60	,76
<i>Curt</i>	1,06	,99	1,20

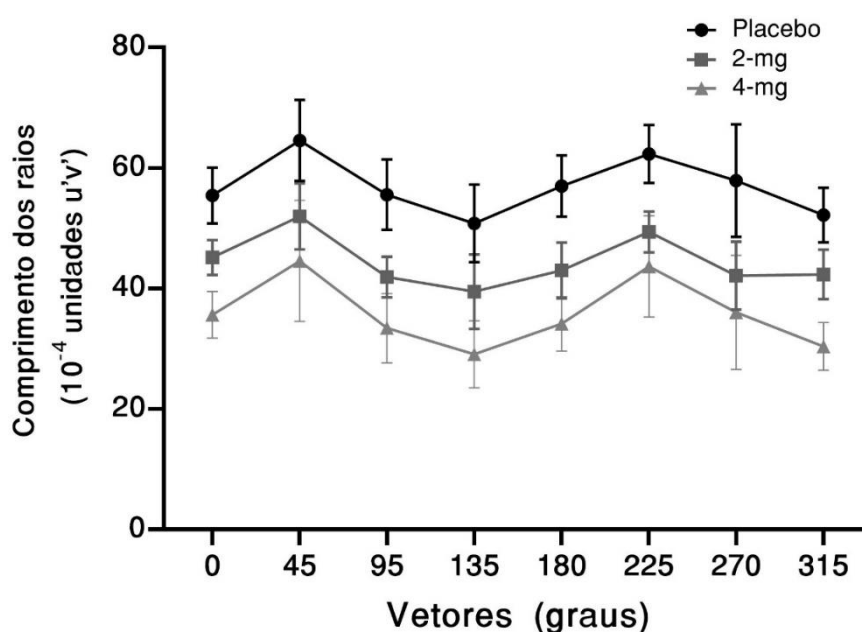
Vetor 315°			
<i>M (DP)</i>	52,19 (4,53)	42,33 (4,10)	3,38 (3,95)
<i>Med (IIQ/2)</i>	53,00 (8,50)	41,00 (8,00)	3,00 (11,00)
<i>Var</i>	2,56	16,84	48,35
<i>Assim</i>	,94	-,74	-,40
<i>Curt</i>	1,06	,99	1,20

Nota. Os dados apresentados correspondem à Média (M), Desvio-padrão (DP), Mediana (Med), Intervalo semi-interquartil (IIQ), Variância (Var), Assimetria (Assi) e Curtose (Curt).

As análises *post hoc* confirmaram os resultados prévios indicando que quando os participantes fizeram uso de goma de nicotina, houve diferenças significativas relacionadas à goma placebo ($p < ,001$); essas diferenças foram mais evidentes para as gomas contendo 4-mg que para a goma contendo 2-mg ($p < ,001$). Esses dados correspondem aos resultados do subteste *Trivector* e aos dados relativos ao direcionamento das elipses aos ângulos, principalmente as cores verde, azul e amarelo (ou aos eixos verde-vermelho, azul e amarelo) (Fig. 43).

Fig. 43

Comprimento dos Raios para cada um dos Vetores da Ellipse 1



Nota. Os dados estão apresentados em 10^{-4} unidades u'v' do diagrama de cores CIE 1976. Os dados estão representados pelas médias e desvios-padrão para cada vetor (em graus). As linhas conectam os vetores correspondentes em cada uma das condições (placebo, 2-mg e 4-mg).

7.2.3 Efeitos adversos

Os resultados referentes aos efeitos adversos do presente estudo estão apresentados na Tabela 14. Como mencionado, cada um dos efeitos adversos foi perguntado aos participantes que relatou a presença ou não, se acredita estar ou não relacionado ao uso da goma. Como observado na Tabela, apesar de a incidência de alguns eventos ter sido mais alta (e.g., a náusea e o formigamento são comuns devido ao mecanismo fisiológico da nicotina), não observamos diferenças na incidência dentre condições (placebo, 2-mg e 4-mg) e entre condições. Isto é, não houve diferenças entre os que relataram os efeitos adversos quando comparados aos que não relataram, e estas diferenças não foram relacionadas ao aumento ou diferenciação da dosagem.

Tabela 14

Relação dos Efeitos Adversos

	Placebo	2-mg	4-mg	Q	p
Cefaleias	9 (42,9%)	11 (52,4%)	7 (33,3%)	2,18	,336
Tontura	5 (23,8%)	6 (28,6%)	5 (23,8%)	,19	,924
Náuseas	10 (47,6%)	11 (52,4%)	7 (33,3%)	,13	,936
Formigamento	6 (28,6%)	5 (23,8%)	5 (23,8%)	,46	,764
Xerostomia	2 (9,5%)	0 (0%)	1 (4,8%)	2,00	,368
Outros (sudorese, agitação etc.)	3 (14,3%)	1 (4,8%)	2 (9,5%)	,60	,602

Nota. Q = valor da estatística de Cochran.

7.2.4 Cegamento

Após o final das três sessões, os participantes adivinharam qual condição eles haviam recebido ao longo das três sessões (placebo, 2-mg ou 4-mg). Isto é, quando um participante acreditou que a primeira sessão foi placebo, disse "placebo" e o responsável da equipe marcou "placebo" no respectivo espaço referente à primeira sessão. Vale mencionar que ambos (o participante e o pesquisador desta etapa) estavam cegos ao tipo de intervenção e que, desta feita, a adivinhação de uma das opções, sem certeza, é um dos mecanismos de avaliação da eficácia do cegamento de muitos ensaios clínicos (Hróbjartsson et al., 2014). Conforme observado na Tabela 15, cerca de 28,6% dos participantes que estiveram na condição placebo acertaram sua condição enquanto 15 (71,5%) adivinharam entre a condição de 2-mg ou 4-mg. Este padrão aumentou para os participantes das condições envolvendo nicotina; no entanto, não foi significativo de acordo com o teste Q de *Cochran* ($p > ,05$). Para a goma contendo 2-mg, sete participantes (33,3%) acertaram a condição de 2-mg, enquanto 14 alternaram adivinhar entre placebo ou 4-mg (66,7%).

Por fim, para a goma contendo 4-mg, nove participantes (42,9%) acertaram a condição sorteada. Porém, 12 adivinharam entre placebo ou 4-mg (57,1%). Os resultados indicam que o cegamento não foi quebrado e, de fato, houve eficácia no cegamento. É importante mencionar que os dados da seguinte Tabela estão ordenados de forma que os valores apresentados nas colunas se referem às condições sorteadas, enquanto os valores que estão nas linhas referem-se às adivinhadas pelos participantes.

Tabela 15

Eficácia do Cegamento

Cegamento – Condição adivinhada x Condição sorteada				
	Placebo	2-mg	4-mg	Total
Placebo	6	6	9	21

2-mg	8	7	6	21
4-mg	5	7	9	21
				$Q = 2,23$ ($p = ,327$)

Capítulo 8 – Discussão

8. Aspectos Gerais

O principal objetivo desta pesquisa foi investigar os efeitos da nicotina na sensibilidade ao contraste visual em adultos não fumantes. Nas condições de nicotina (2-mg e 4-mg), os participantes apresentaram maiores curvas de sensibilidade ao contraste (Fig. 19) (i.e., melhor discriminação) e menores limiares (i.e., melhor discriminação) tanto para o subteste *Trivector*, considerando os três vetores Protan, Deutan e Tritan (Fig. 29, Fig. 31, Fig. 33, respectivamente) quanto para a maior parte dos parâmetros do subteste *Ellipse* (Fig. 35, Fig. 36, Fig. 37, Fig. 43). A condição de nicotina contendo 4-mg foi responsável pela melhor discriminação quando comparada com a condição contendo 2-mg para a maioria das variáveis estudadas.

Como mencionado, apenas três estudos investigaram os efeitos da nicotina em aspectos visuais (Fernandes et al., 2020; Naser et al., 2011; Varghese et al., 2011). Esses estudos trouxeram luz à importância de se estudar os efeitos isolados da nicotina no SV de adultos que não tiveram contato prévio com a nicotina (i.e., adultos *naïves*, ou não fumantes). A relação da nicotina e os receptores nicotínicos existentes no SV pode ajudar na compreensão de: (i) como outros elementos prejudiciais existentes no cigarro podem ter ação independente da nicotina; (ii) como a nicotina pode ter papel importante na reabilitação de pacientes que apresentem baixa visão, como ocorre na catarata, que reduz a AV (ver Capítulo 1, Capítulo 2). Os nAChRs, que contêm unidades que vão de $\alpha 2$ – $\alpha 9$, $\beta 2$ – $\beta 6$ ou combinações α/β , agem através de uma síncrona organização farmacológica, determinando propriedades funcionais e afinidades agonistas/antagonistas no organismo (Changeux, 2018). Além disso, essas subunidades são distribuídas por toda retina (camadas internas, externas, ganglionares), NGL e córtices visuais (Hall et al., 2019; Iwamoto et al., 2013).

A expressão desses receptores nicotínicos mimetiza o funcionamento não só da acetilcolina e dopamina, mas também do GABA e glutamato, sendo responsáveis pela modulação da resposta neuronal pré- e pós-sináptica de neurônios das vias visuais. A partir dessas premissas, evidências apontam que tanto para condições escotópicas quanto para condições fotópicas, a administração de nicotina pode potencializar a eficácia da atividade dos fotorreceptores (e.g., cones e bastonetes) e dos neurotransmissores. Ademais, é possível uma cascata de desinibição da neurotransmissão ocorra aumentando a liberação de glutamato por meio dos terminais bipolares, causando *feedback* positivo. Uma vez que isso aumenta a liberação de GABA das células amácrinas, volta-se ao processo de neurotransmissão dopaminérgica. Assim, o processamento para ERG (Varghese et al., 2011), e tempo de reação para detecção de faces (Fernandes et al., 2020) é beneficiado por este mecanismo.

Estudos prévios investigaram que a exposição crônica à nicotina, através do uso do cigarro (Arda et al., 2015; Fernandes et al., 2018) pode ser responsável pela diminuição gradativa da acuidade visual, SC e visão de cores. No entanto, é preciso ter cuidado ao observar a influência da nicotina nesses resultados. Sabe-se que uma das principais propriedades da nicotina é a dessensibilização (Picciotto et al., 2008). Ou seja, maior a exposição à nicotina, maior a *upregulation* (regulação positiva) o que traz maior necessidade de nicotina para ativação dos receptores, mudando a afinidade e propriedades dos nAChRs.

Esse aspecto é comum em relação a uma administração crônica e em grande quantidade de nicotina. Por exemplo, não foram observadas *upregulation* com administração de 2-mg de nicotina na retina de primatas não humanos (Liu et al., 2009). A expressão dos nAChRs foi reportada em células bipolares, amácrinas, ganglionares, e processos dentro das sublâminas a e b da camada plexiforme interna. A administração

de 2-mg mostrou expressão de, principalmente, subunidades $\alpha 7$ envolvidas com cones, e células amácrinas GABAérgicas. Com base nesses achados, a taxa de dessensibilização não sofreu muita influência em baixas doses de nicotina. No entanto, diferenças em relação às subunidades (e.g., $\alpha 7$ ou $\beta 2$) foram observadas; as subunidades homoméricas apresentam dessensibilização rápida, enquanto as heteroméricas dessensibilizam mais lentamente. Apesar de esses dados estarem relacionados com dose-dependência, estudos em animais demonstraram que baixas doses de nicotina não afetam a conformação das propriedades dos nAChRs ao ponto de causar a necessidade de gênese de mais receptores e gerar vício (Kondo & Sieving, 2001; Neal et al., 2001; Viswanathan et al., 2002).

Pensar nisso em relação a um grupo de tabagistas também é correto, uma vez que o cigarro contém inúmeros componentes químicos e até mesmo cancerígenos (e.g., cádmio) que ajudam a prejudicar direta ou indiretamente a resposta do SV e, de certo modo, camuflar a ação dos receptores nicotínicos (Arda et al., 2015; Ganguly et al., 2018). Considerando que os componentes do cigarro são rapidamente absorvidos, o uso crônico de cigarros pode rapidamente causar dessensibilização e, conseqüentemente, vício (Benowitz, 2010). A interação entre os componentes do cigarro e os neurotransmissores não está completamente clara, mas sabe-se que estes interagem com dopamina (envolvida no sistema de recompensa), acetilcolina envolvida no processamento atencional), e glutamato (envolvida na transmissão de impulsos excitatórios em áreas corticais). As substâncias do cigarro afetam o encéfalo e o processamento visual (Fernandes et al., 2018; Kunchulia et al., 2014). No entanto, existem diferenças quanto aos efeitos dos componentes isolados. Isto é, a tolerância aguda e crônica difere no tocante às diferenças na neurotransmissão. O tabagismo pode gerar um aumento do número de nAChRs comparado a indivíduos saudáveis expostos à

administração aguda de nicotina (Benowitz, 2010). Isso ocorre quando a dessensibilização crônica ocorre; ou seja, quando o cérebro produz mais receptores do que a dose-dependência precisa (Levin, 2001).

É essencial questionar, no entanto, qual seria considerada a dose "teto". Isto é, até qual dose as melhoras visuais ocorreriam? Como mencionado, estudos em animais mostraram que doses baixas de nicotina não afetam estruturas retinianas. No entanto, os três estudos envolvendo adultos não fumantes apresentam resultados consistentes, porém questionáveis (Fernandes et al., 2020; Naser et al., 2011; Varghese et al., 2011). É com isto que o *ENIGMA-Vis* se propôs a investigar estes aspectos. Para justificar essa suposição, é preciso trazer luz à importância do estudo realizado por Picciotto (2003). A nicotina pode ter efeitos diferentes e isto pode ser explicado de acordo com as tarefas utilizadas nos estudos. A dose-dependência, apesar de não explicar todas as suposições, pode ser interpretada a partir da perspectiva de tarefa-dependente, onde uma tarefa pode exercer resultados que outra não exerceria devido a fatores externos como ruído atencional, por exemplo. As principais explicações, suposições e limitações da presente pesquisa serão discutidas a seguir.

8.1 Função de Sensibilidade ao Contraste

Em relação à SC (Fig. 19), houve melhor SC nas condições nicotina (2-mg e 4-mg) para as frequências espaciais baixas e altas. Esta diferença foi mais evidente quando houve aumento da dosagem (i.e., 4-mg > 2-mg; $p < ,001$). Como visto no Capítulo 1, a FSC pode ser dissecada em três conjuntos de frequências espaciais: baixas, intermediárias e altas. De acordo com modelos teóricos, as frequências baixas são processadas pela via magnocelular, as frequências médias são processadas pela atividade conjunta das vias magno- e parvocelular, e as frequências altas são processadas pela atividade da via parvocelular (Ahmadi et al., 2015; Yoonessi &

Yoonessi, 2011). Apesar de este modelo de canais e/ou vias ser debatido em algumas condições, é um modelo consolidado que serve como boa ilustração do processamento visual para as frequências espaciais (Ahmadi et al., 2015; Santos & Simas, 2001a).

Uma pequena parte das células retinianas ganglionares são magnocelulares, e estão em mesma concentração por toda retina, incluindo a fóvea (Yoonessi & Yoonessi, 2011). A resposta magnocelular é fásica e sua sensibilidade à luminância rapidamente satura (dependendo da condição). Em pessoas saudáveis, uma curva de SC tende a aumentar sua resposta cerca de 10-20% de acordo com os níveis de contraste até alcançar o pico – nas frequências médias – e então tende a decair naturalmente (Pelli & Bex, 2013). Assim, a AV e a resolução espacial são melhores para as células parvocelulares que para as células magnocelulares. Isso tem grande implicação para atividades do dia a dia como ler, dirigir ou caminhar. No entanto, algumas condições podem melhorar com treino (e.g., treino perceptual para dislexia; (Gori & Facoetti, 2014) ou piorar devido a insultos do SN [e.g., Doença de *Parkinson*; Bulens et al. (1989). Então, tanto as células quanto as vias visuais podem ser afetadas de formas divergentes. Tal conclusão indica que, apesar de funcionarem em conjunto, ambas funcionam independentemente.

A melhora para as frequências espaciais baixas na presente pesquisa, considerando o uso de grades isoluminantes e com ângulo visual de 5 graus, pode ser hipotetizada a partir de duas premissas. A primeira está relacionada com a neuropsicofarmacologia. Estudos prévios mostraram que o uso de medicações anticolinérgicas prejudicou o desempenho de pacientes com Doença de *Parkinson* e Doença de *Alzheimer* (Bulens et al., 1989; Risacher et al., 2013), afetando áreas como o colículo superior, NGL, córtex visual primário e, sobretudo, a via magnocelular. O prejuízo nessas áreas reduziu a transmissão tanto de dopamina quanto de acetilcolina,

reduzindo a resposta para estímulos de potenciais visuais evocados, SC temporal, e redução para as frequências baixas na FSC. Considerando essa hipótese, seria passível de considerar também a redução nas frequências médias que também são processadas pelas vias magno- e parvocelular.

Desta feita, a segunda hipótese aborda a via magnocelular dissecada quanto às subunidades nicotínicas existentes e quanto ao funcionamento isolado desta na ausência de ruído (que será explicado a seguir). Apesar de a maior parte das subunidades dos nAChRs serem expressas na via parvocelular (Rubboli et al., 1994; Zaninetti et al., 2002), existe uma grande expressão de $\alpha 4\beta 2$ em membranas pós-sinápticas em outras vias visuais (Fernandes et al., 2020). A administração aguda de nicotina facilita a liberação de acetilcolina que age diretamente no sistema neuroendócrino da via magnocelular (principalmente alterando o funcionamento do núcleo supraóptico) (Zaninetti et al., 2002).

Isso explica, em parte, como os receptores nicotínicos nessa via são capazes de liberar neurotransmissores modular as transmissões axo-axônicas dos receptores pré-sinápticos existentes apenas na via magnocelular - sem influenciar as vias conio- e parvocelulares (Rubboli et al., 1994; Zaninetti et al., 2002). Assim, a via magnocelular pode ter sido influenciada pela dosagem (i.e., as melhoras seriam dose-dependentes) e pela grande expressão das subunidades $\alpha 4\beta 2$ que exerceriam *feedback* positivo na própria via.

A média de idade para o Estudo 1 foi de 24,2 anos, alcance onde jovens e adultos jovens apresentam a melhor (ou próxima a melhor) discriminação visual. Em particular, pessoas saudáveis geralmente apresentam uma curva de SC com pico acentuado para as frequências espaciais intermediárias (ou intermediárias) (Pelli & Bex, 2013). Isso se deve às propriedades específicas do SV que podem ser seletivas às

frequências, orientação, fase, amplitude (ver Capítulo 1) (Cornsweet, 2012). De acordo com os resultados (Fig. 19), não houve diferenças entre as condições placebo e nicotina para as frequências espaciais intermediárias. Este achado, apesar de envolver apenas duas frequências espaciais, é intrigante. No entanto, também há ao menos duas possíveis explicações para isto. Apesar de as frequências espaciais intermediárias serem processadas por ambas as vias magno- e parvocelular, o processamento integrado sofre forte ação de ruído (Liu et al., 2006; Pelli & Farell, 1999). Este tipo de ruído pode ser de qualquer tipo: fisiológico, farmacológico etc. Neste caso, um simples ruído atencional devido aos efeitos adversos (Tabela 8), por mais que tenham sido mínimos, pode ter sido responsável pela ausência de diferenças dentre as condições.

As frequências intermediárias são processadas em conjunto e, por isto, podem sofrer "perturbações" externas e internas mais facilmente que o processamento das frequências baixas e altas (Kauffmann et al., 2014). Apesar de ser uma hipótese razoável, seria superficial considerar apenas o ruído como responsável pela ausência de diferenças. A outra hipótese refere-se ao efeito cumulativo da dosagem de nicotina. Uma vez que a FSC tem sua acentuação nas frequências espaciais intermediárias, é possível que a dose-dependência sature a certa quantidade de contraste que não tenha sido suficiente para ultrapassar a curva placebo. Essa limitação precisa ser observada em estudos futuros com uma amostra maior, e onde seja possível correlacionar com variáveis fisiológicas para confirmar ou refutar esta hipótese.

A diferença mais evidente ocorreu para as frequências espaciais altas (Fig. 19). Com isto em mente, realizou-se uma análise adicional calculando a diferença relativa entre o valor bruto para a condição de nicotina (2-mg e 4-mg) e placebo (Fig. 27). Estes resultados estão de acordo com o que foi levantado nos Capítulos 1 e 2. A expressão colinérgica derivada da administração de nicotina ativaria não só os receptores

nicotínicos pré-sinápticos, mas também os pós-sinápticos (Levin, 2001). Isso indica que a combinação entre subunidades de nAChRs na via parvocelular corresponde a sinapses que têm ligação com inúmeras estruturas da retina, principalmente cones e bastonetes (Bansal et al., 2000; Varghese et al., 2011). A ligação com os neurotransmissores tem início em diferentes porções das células (i.e., tanto para os dendritos que se projetam para as áreas dorsais, quanto para áreas ventrais) e afinidade com diferentes cátions e ânions como Ca^{2+} (i.e., influxo de cálcio nos receptores pós-sinápticos após administração de nicotina) e Mg^{2+} (i.e., bloqueio da ativação de NMDA, elevando Mg^{2+}) que funcionam, igualmente, em *feedback* positivo para o fino controle da neurotransmissão (Zaninetti et al., 2002).

Apesar de não haver uma conclusão sobre se a via magnocelular é mais sensível a estímulos com orientação vertical (igual ao do Estudo 1), é possível existir uma relação entre "preferência" a um estímulo com certo direcionamento em detrimento de outro. Isto é comum para estímulos com direcionamento; por isso, o reconhecimento para algumas cartelas de AV direcionais (Capítulo 1) exige não só processamento visual inicial, mas estágios de processamento cognitivo (Kniestedt & Stamper, 2003). Por fim, algumas específicas subunidades nicotínicas existentes em vias visuais que vão desde a retina até V1-V4 são responsáveis pelos efeitos da nicotina no processamento espacial. Em algumas camadas do V1 (principalmente na camada 4) existe a expressão de subunidades que são altamente relacionadas em terminais pré-sinápticos das sinapses talamocorticais (Varghese et al., 2011).

8.2 Discriminação Cromática

Os resultados indicaram melhor discriminação cromática nas condições nicotina (2-mg e 4-mg) para o subteste *Trivector* (Fig. 29, Fig. 31, Fig. 33) e para parâmetros do

subteste *Ellipse* como a área (Fig. 35), comprimento do eixo maior (Fig. 36) e ângulo do eixo maior (Fig. 37). Esta diferença foi mais evidente quando houve aumento da dosagem (i.e., 4-mg > 2-mg; $p < ,001$).

É importante mencionar que existem diversos modelos de apresentação e interpretação dos estímulos cromáticos (McDermott & Webster, 2012). A vantagem do CCT é ser um teste computadorizado, relativamente rápido, confiável, amplamente utilizado por mais de vinte anos e com resultados replicáveis (Fernandes et al., 2020). De modo geral, o CCT busca investigar respostas dos canais visuais (verde-vermelho, azul-amarelo, preto-branco). De modo simples, a discriminação do estímulo ocorre quando a resposta do fotorreceptor é diferente do fundo no qual o estímulo está sobreposto (seja envolvendo apenas um canal, ou na soma da diferença dos três canais) (Conway et al., 2018). Com o CCT, o fundo acromático não é considerado porque a sua luminância é a mesma em relação ao fundo e ao alvo; assim, apenas as respostas em relação aos dois canais cromáticos são consideradas (verde-vermelho e azul-amarelo). Apenas diferenciando os dois subtestes: o *Ellipse* utiliza a resposta dos cones e pondera os canais cromáticos pós-receptor; o *Trivector* utiliza estímulos para que a discriminação determine o limiar para apenas um tipo de cone. Resumindo, para o Protan (vermelho) as respostas de Deutan (verde) e Tritan (azul) são constantes para o fundo e o alvo, então o limiar é direcionado apenas para as diferenças na resposta do L-cone (vermelho) entre o fundo e o alvo (Stockman et al., 2005).

Para que exista processamento e neurotransmissão é necessário que exista estimulação do SV. A informação dos canais visuais é percebida como matiz (canais cromáticos) ou brilho (canais acromáticos) (Conway et al., 2018). Assim, para o fundo acromático não existe resposta dos canais acromáticos nem neurotransmissão. Para que um limiar ocorra, sendo maior ou menor, a resposta precisa ser suficientemente

diferente do fundo. Após administração da nicotina, os resultados indicaram que houve diferença nas respostas dos canais cromáticos. Ou seja, utilizando os parâmetros da *Ellipse* como modelos, os estímulos não pareciam cinza (acromático), mas em alguma cor. A grande diferença do subteste *Ellipse* é a formação de uma elipse de discriminação cromática que é plotada no diagrama de discriminação (MacAdam, 1942; Webster & Leonard, 2008). Esta elipse é composta por elementos que podem ser interpretados separadamente (e.g., menor comprimento indica melhor discriminação). No entanto, existem parâmetros da elipse que são mais relevantes. A proporção entre os eixos, por exemplo, pode indicar se um participante apresentou algo com formato mais circular (provavelmente uma anomalia cromática) ou com formato mais elíptico (considerado normal para tricromatas saudáveis) (Mollon & Regan, 2000).

Apesar de existir pouca informação sobre receptores nicotínicos, acetilcolina e visão de cores, é possível hipotetizar sobre os resultados obtidos a partir dos elementos levantados nos primeiros capítulos (Capítulo 1, Capítulo 2). A amostra do Estudo 2 também foi composta por jovens e adultos jovens com média de idade de 23,3 anos a faixa onde se encontra a melhor (ou próxima a melhor) discriminação cromática (Paramei & Oakley, 2014). Essa informação é importante, pois serve como parâmetro de comparação a estudos futuros, para que possam estratificar de acordo com as décadas de idade (Paramei & Oakley, 2014) e observar se existe relação ou efeitos de idade nos resultados.

Os resultados do subteste *Trivector* indicaram melhora na condição nicotina para os três vetores (vermelho, verde e azul). A diferença mais evidente foi para o vetor azul, ou Tritan). Os dados não apresentaram alta variabilidade; no entanto, a condição 4-mg apresentou uma alta dose-dependência, o que pode ter levado a uma tendência de variabilidade para o eixo de confusão. Em relação à neuropsicofarmacologia, a

administração de nicotina pode ter ampliado o ganho pré- e pós-sináptico das células retinianas e facilitado a neurotransmissão principalmente na via visual parvocelular.

Com isto, maior a dose, melhor a discriminação. De acordo com Varghese et al. (2011), para ERG, e Naser et al. (2011), para o teste da cor vermelha é possível que a ação colinérgica tenha direta ligação com algumas subunidades de nAChRs específicas mais abundantes nas vias visuais, como a $\alpha 7$ (responsável pela condutância de Ca^{+2}). Tal proposição é corroborada pelos resultados do Estudo 2, mas é de extrema importância destacar que não existe, até o momento, uma explicação detalhada sobre as funções de cada uma das subunidades. Desta feita, outras subunidades de nAChRs podem exercer igual ou até mesmo maior papel no processo de plasticidade neuronal. A subunidade $\alpha 4\beta 2$, por exemplo, tem grande afinidade com receptores ionotrópicos nicotínicos para Na^+ e K^+ , e age diretamente na estimulação do sistema colinérgico em V1 (Kang et al., 2009).

Os resultados não indicaram possibilidade de saturação em relação ao *Trivector*, assim como também não mostraram efeitos chão ou efeitos teto para nenhuma das três condições tal como observado nos dados normativos. Ainda, uma vez que os M- e L-cones envelhecem primeiro, essa possa ser uma explicação do resultado inverso (i.e., adultos jovens têm melhora para S-cones, ou para o eixo de confusão Tritan) (Shinomori & Werner, 2012). Outra explicação para melhor discriminação nos S-cones (Tritan ou azul) se deve à neurotransmissão dopaminérgica e acetilcolinérgica. Estudos mostraram que células horizontais e amácrinas são moduladas, em grande parte por dopamina (Bodis-Wollner, 1990; Bubl et al., 2012). O uso de medicações antagonistas de dopamina (e.g., uso de antipsicóticos) elimina a transição das respostas das células horizontais (e.g., de monofásica para bifásica) durante a adaptação à luz (van Hateren e Lamb, 2006). Os efeitos de algumas dessas drogas indicam que receptores

dopaminérgicos específicos (classes D₁) estão localizados nas células horizontais e células amácrinas (classes D₂), tendo diferentes papéis na neurotransmissão. Isso dá suporte à ideia de que a dopamina pode funcionar sozinha, ou servir como modulatória de outros neurotransmissores como a acetilcolina.

No entanto, a dopamina não afeta apenas canais responsáveis pelo processamento do azul-amarelo. Um dos modelos mais comuns de investigação da ação da dopamina, a Doença de *Parkinson*, tem mostrado que pacientes apresentam uma redução evidente para os eixos azul-amarelo e verde vermelho (Bodis-Wollner, 1990; Bulens et al., 1989). Estudos envolvendo diversos testes como o *Farnsworth-Munsell 10*, *Lanthony-D15*, *Farnsworth-D15* e *Red-Test* mostraram que tanto a dopamina quanto a acetilcolina estão envolvidas no processamento de cores. A importância de mencionar estes dois neurotransmissores em específico é porque: (1) a administração de nicotina mimetiza a acetilcolina; (2) a acetilcolina pode servir como *feedback* positivo para a dopamina; (3) a acetilcolina pode entrar em um *loop* de alimentação para a dopamina (i.e., acetilcolina, dopamina, acetilcolina); e (4) a nicotina age no organismo de formas diferentes de acordo com o teste utilizado (Lester et al., 2010; Partridge et al., 2002).

Os resultados do subteste *Ellipse* indicaram melhora na condição nicotina para a maioria dos parâmetros utilizados (i.e., área, comprimento do eixo maior, ângulo e raio dos vetores). Esses resultados indicaram uma dose-dependência de nicotina, corroborando também com as hipóteses levantadas sobre o processamento envolvendo a via parvocelular que processa frequências espaciais altas (Estudo 1). A condição nicotina apresentou maiores ângulos que a condição placebo (sendo significativa apenas para 4-mg). No entanto, como discutido a seguir, isso pode ser explicado por uma leve mudança na rotação dos vetores de 45° e 225°, que pode ter relação com a oposição

entre os canais (McDermott & Webster, 2012). No tocante à proporção entre os eixos, todas as condições tiveram valores acima de 1, indicando que as elipses não divergiram em formato, nem inclinaram para o formato circular. Apesar de esta análise não ter mostrado diferença, analisamos a excentricidade das elipses ($p > ,05$). Isto indica que todas tiveram formato elíptico e não tiveram efeito chão ou teto.

Classificando os vetores de acordo com as matizes, os quatro ângulos principais (ou quatro eixos principais) são: vermelho [0° ; (+L-M)], amarelo [90° ; (-S)], verde [180° ; (-L-M)] e azul [270° ; (+S)]. No entanto, essas matizes são classificadas de acordo com os processos dos canais de oponência, por exemplo: verde-vermelho (processo de somação e subtração dos cones, L-M+S), onde são acentuados nos graus 0-180 e nulos nos graus 135-315; azul-amarelo (S-L+M), onde são acentuados nos graus 90-270 e nulos nos graus 0-180. Todas essas informações ocorrem dentro de um diagrama de cor sem indução cromática. Isto é, a alteração de uma cor no espaço altera a distância euclidiana entre os pontos (McDermott & Webster, 2012).

A elipse do subteste *Ellipse* é composta por oito vetores separados por 45° . A análise destes vetores pode mostrar como estes estão distribuídos no diagrama cromático CIE 1976 e se estão relacionados com os demais parâmetros obtidos no subteste. Conforme observado nos resultados (Fig. 43), a condição nicotina apresentou menor comprimento dos raios em comparação à condição placebo, sendo mais evidente para a condição 4-mg. Os desvios-padrão dos vetores 45° , 225° e 270° indicam uma possível saturação da dose 4-mg; no entanto, como não houve grandes diferenças entre estes três raios para a condição de 4-mg, esta pode ser uma explicação para maior rotação da condição nicotina em comparação ao placebo. É incipiente, porém pode ser algo mais bem observado em uma amostra mais heterogênea. De modo breve, os vetores são complementos entre si (0-180; 45-225; 90-270; 135-315) de tal modo que

qualquer insulto ao SV deve afetar vetores complementares (o que não foi observado no presente estudo).

8.3 Índice de Massa Corporal

Contrário às expectativas, os resultados não mostraram associação entre IMC e o desempenho para a SC (Figs. 21-26) e para a discriminação cromática em ambos subtestes *Trivector* (Fig. 3, Fig. 32, Fig. 34) e *Ellipse* (Figs. 39-42). Apesar de não haver relação significativa, é possível observar em alguns gráficos (e.g., Fig. 39) a inclinação da reta sugere que alterações no IMC podem sugerir possíveis diferenças nos parâmetros da elipse. Até a presente data não existem evidências sobre a relação entre IMC e a discriminação de cor; tampouco sobre como a nicotina poderia beneficiar ou não população com baixos ou altos IMCs. Não se pretende estabelecer qualquer relação causal neste estudo entre IMC e o desempenho visual, principalmente considerando que o tamanho amostral é menor que o sugerido pelo protocolo do *ENIGMA-Vis* (Fernandes et al., 2020). Então, a ideia de que o IMC possa afetar o SN e o SV precisa ser investigado com mais robustez e em maior amostra para que este modelo possa ser explicado com cuidado e maiores detalhes.

8.4 Efeitos Adversos e Eficácia do Cegamento

Em relação ao primeiro estudo, os efeitos adversos (Tabela 8) não foram significativos e o cegamento (Tabela 9) não foi quebrado. Esses resultados indicaram que cerca de 23,1%, 2,0% e 33,8% reportaram efeitos adversos nas condições placebo, 2-mg e 4-mg. Apesar de os efeitos adversos terem sido aparentemente maiores quando na condição 4-mg, a distribuição foi equivalente, e o valor da estatística Q de *Cochran* teve valor $p > ,05$. Em relação ao segundo estudo, os efeitos adversos (Tabela 14) e o cegamento (Tabela 15) também não foram significativos. Os resultados para os efeitos adversos indicaram que cerca de 27,8%, 27,0% e 21,4% reportaram efeitos adversos nas

condições placebo, 2-mg e 4-mg. Houve mais relatos sobre a presença de náuseas para as três condições. Desconsiderando a condição placebo, onde a náusea, tontura e formigamento podem ser explicados pela presença de elementos como levomentol e mentol, os aspectos em relação às condições da nicotina serão explicitados. Estudos mostraram a existência de receptores nicotínicos e dopaminérgicos na área postrema, uma região importante para a resposta emética (Swanson et al., 1987).

No entanto, a região emética da formação reticular no tronco encefálico também exerce papel na regulação das respostas eméticas, porém sem elementos nervosos colinérgicos (ou, pelo menos, em menor quantidade) (Pedigo & Brizzee, 1985). Assim, é plausível afirmar que as dosagens utilizadas nesta pesquisa não causaram maiores efeitos adversos. Em relação a outros efeitos (e.g., formigamento), é preciso considerar a ação colinérgica, mais especificamente das subunidades de nAChRs $\alpha 3$ e $\alpha 7$ nos queratinócitos (Chernyavsky et al., 2004). Não existem evidências de prejuízos a curto ou longo prazo para administração da nicotina.

O mesmo ocorreu para o cegamento, medido após o final das três sessões. Não houve diferenças entre a condição adivinhada pelo participante (i.e., o que achou estar sendo administrado) e a condição sorteada (i.e., se era placebo, 2-mg ou 4-mg) para o Estudo 1 ou Estudo 2. Duas equipes diferentes estiveram participando da coleta de dados em ambos os estudos, o que pode ter facilitado evitar quebrar o cegamento, tal proposição precisa ser abordada em estudos seguintes. Ademais, existiam, no mínimo, três pesquisadores responsáveis pela administração das gomas.

8.5 Conclusões

Levando em consideração as informações levantadas até agora, esses resultados iniciais indicam que a goma de nicotina resulta em melhora na sensibilidade ao

contraste visual e que é dose- e tarefa-dependente. É possível que esta melhora tenha conexão com as subunidades de receptores nicotínicos existentes nas vias visuais. Uma vez que os nAChRs estão mais presentes na via parvocelular, uma das hipóteses é que esta melhora seja acentuada para as frequências espaciais altas e para estímulos cromáticos. Porém, foram observadas melhoras em ambos os estudos. A ausência de melhora para as frequências espaciais intermediárias não indica que a nicotina possa ser prejudicial ou ter efeito nulo para essa banda de frequências. Considera-se a possibilidade de ausência de efeitos no controle de ganho, ou ruído nas condições de nicotina (e.g., ruídos fisiológicos) uma vez que o processamento dessas frequências envolve o funcionamento paralelo das vias magno- e parvocelular; e que este processamento conjunto é sensível.

Aparentemente, não há surpresa em que a cor azul tenha tido menores limiares em comparação às demais cores para o subteste *Trivector*. Tal suposição baseia-se na construção dos sistemas de cores ou espaços de cores (McDermott & Webster, 2012). No caso do CCT, especificamente, o espaço de cor L^*u^*v no diagrama CIE 1976 é inclinado para o azul-amarelado (ou amarelo-azulado); então, é possível que algumas cromaticidades estejam relacionadas ao diagrama. Isso não indica que a goma de nicotina cause melhora apenas (ou em maior parte) para a cor azul. Considerando todos os valores obtidos no subteste *Trivector* (i.e., os limiares), a nicotina causou melhora igualitária para os três vetores, ou para as três cores relacionadas aos vetores (vermelho, verde e azul). Dessarte, não houve diferenças em magnitude ou amplitude significativa para os limiares envolvendo as três cores.

A administração da nicotina tem sido utilizada como importante ferramenta na cessação ao tabagismo (Hartmann-Boyce et al., 2018). Mas também como agente neuroprotetivo à Doença de Parkinson (Quik et al., 2012). Uma vez que a nicotina

modula acetilcolina e, consequentemente, dopamina em vias de neurotransmissão como a via nigroestriatal, prejudicada na Doença de *Parkinson*, o seu uso pode potencializar uma melhora ou causar proteção antes que maiores danos ocorram. Ainda, estudos apontam que o córtex é seletivo para o processamento de informações visuais, onde o hemisfério direito responde melhor ao processamento das frequências espaciais baixas e o hemisfério esquerdo responde melhor para as frequências espaciais altas (Kauffmann et al., 2014). Este tipo de processamento pode servir como base para estudos futuros que tenham interesse em utilizar a goma de nicotina em condições onde exista prejuízo em um dos hemisférios, como o acidente vascular encefálico.

A presente pesquisa apresenta limitações. Em primeiro lugar, o poder para o cálculo amostral precisou ser reduzido para alcançar um número suficiente com taxa de atrito elevada. Apesar de o tamanho amostral do Estudo 2 ter ultrapassado o cálculo amostral, ambos os estudos ainda precisam continuar para alcançar o tamanho proposto pelo protocolo *ENIGMA-Vis*. Ainda, medidas fisiológicas como análise sorológica da cotinina ou nicotina não puderam ser obtidas devido a restrições de tempo. Por fim, trata-se de um estudo comportamental, então todas as hipóteses e suposições levantadas precisam ser cuidadosamente interpretadas. A presente pesquisa irá continuar conforme o protocolo e mais medidas serão adicionadas para que possam dar mais base aos resultados comportamentais.

Por fim, os resultados obtidos podem ter implicações teóricas no campo das neurociências, ajudando na compreensão do funcionamento da nicotina no processamento visual. Ademais, espera-se que estes resultados possam alcançar populações que tenham prejuízos visuais, uma vez que os mecanismos colinérgicos podem ser modulados através da administração da nicotina e, consequentemente, gerar plasticidade neuronal.

Aqui não se faz menção ao uso da goma nicotina como ferramenta essencial e fundamental para possível remediação visual, mas traz á tona discussões da possibilidade de seu uso em condições controladas de pesquisa e, se comprovado em amostras e estudos diferentes, sua possível aplicação em determinados contextos. Todos esses resultados precisam ser interpretados com cautela. Algumas questões ainda precisam ser respondidas, mas esta pesquisa propõe-se a contribuir em diferentes áreas do conhecimento.

Referências

- Ah, W., Jm, P., J, S., & Rd, G. (2016). Gender differences in self-reported withdrawal symptoms and reducing or quitting smoking three years later: A prospective, longitudinal examination of U.S. adults. *Drug and Alcohol Dependence*, 165, 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2016.06.013>
- Ahmadi, K., Pouretmad, H. R., Esfandiari, J., Yoonessi, A., & Yoonessi, A. (2015). Psychophysical Evidence for Impaired Magno, Parvo, and Konio-cellular Pathways in Dyslexic Children. *Journal of Ophthalmic e Vision Research*, 10(4), 433–440. <https://doi.org/10.4103/2008-322X.176911>
- Akaike, A., Shimohama, S., & Misu, Y. (2018). *Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling in Neuroprotection*. Springer.
- Albuquerque, E. X., Pereira, E. F. R., Alkondon, M., & Rogers, S. W. (2009). Mammalian Nicotinic Acetylcholine Receptors: From Structure to Function. *Physiological Reviews*, 89(1), 73–120. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2008>
- Allen, A. M., Scheuermann, T. S., Nollen, N., Hatsukami, D., & Ahluwalia, J. S. (2016). Gender Differences in Smoking Behavior and Dependence Motives Among Daily and Nondaily Smokers. *Nicotine e Tobacco Research*, 18(6), 1408–1413. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntv138>
- Almustanyir, A., Hovis, J., & Glaholt, M. G. (2020). Predicting the Farnsworth–Munsell D15 and Holmes–Wright-A lantern outcomes with computer-based color vision tests. *JOSA A*, 37(4), A1–A10. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.381305>
- Alsharari, S. D., Siu, E. C. K., Tyndale, R. F., & Damaj, M. I. (2014). Pharmacokinetic and Pharmacodynamics Studies of Nicotine After Oral Administration in Mice: Effects of Methoxsalen, a CYP2A5/6 Inhibitor. *Nicotine e Tobacco Research*, 16(1), 18–25. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntt105>
- Ambrose, J. A., & Barua, R. S. (2004). The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: An update. *Journal of the American College of Cardiology*, 43(10), 1731–1737. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2003.12.047>
- Ammar, M. J., Hsu, J., Chiang, A., Ho, A. C., & Regillo, C. D. (2020). Age-related macular degeneration therapy: A review. *Current Opinion in Ophthalmology*, 31(3), 215–221. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000657>
- Antonius, R. (2003). *Interpreting Quantitative Data with SPSS*. SAGE Publications.
- Aoi, W., & Marunaka, Y. (2014). Importance of pH Homeostasis in Metabolic Health and Diseases: Crucial Role of Membrane Proton Transport. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/598986>

- Arda, H., Mirza, G. E., Polat, O. A., Karakucuk, S., Oner, A., & Gumus, K. (2015). Effects of chronic smoking on color vision in young subjects. *International Journal of Ophthalmology*, 8(1), 77–80. <https://doi.org/10.3980/j.issn.2222-3959.2015.01.14>
- Auerbach, E., & Burian, H. M. (1955). Studies on the photopic-scotopic relationships in the human electroretinogram. *American Journal of Ophthalmology*, 40(5 Pt 2), 42–60. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(55\)91836-5](https://doi.org/10.1016/0002-9394(55)91836-5)
- Balfour, D. J., & Munafò, M. R. (2015). *The Neuropharmacology of Nicotine Dependence*. Springer.
- Banks, M. S., & Shannon, E. (1993). Spatial and chromatic visual efficiency in human neonates. In *Visual perception and cognition in infancy* (pp. 1–46). Lawrence Erlbaum Associates, Inc.
- Bansal, A., Singer, J. H., Hwang, B. J., Xu, W., Beaudet, A., & Feller, M. B. (2000). Mice Lacking Specific Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunits Exhibit Dramatically Altered Spontaneous Activity Patterns and Reveal a Limited Role for Retinal Waves in Forming ON and OFF Circuits in the Inner Retina. *Journal of Neuroscience*, 20(20), 7672–7681. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-20-07672.2000>
- Bashir, S., Alghamdi, F., Alhussien, A., Alohal, M., Alatawi, A., Almusned, T., & Habib, S. S. (2017). Effect of Smoking on Cognitive Functioning in Young Saudi Adults. *Medical Science Monitor Basic Research*, 23, 31–35. <https://doi.org/10.12659/MSMBR.902385>
- Beck, J. (1978). Additive and subtractive color mixture in color transparency. *Perception e Psychophysics*, 23(3), 265–267. <https://doi.org/10.3758/bf03204137>
- Benowitz, N. L. (1990). Clinical pharmacology of inhaled drugs of abuse: Implications in understanding nicotine dependence. *NIDA Research Monograph*, 99, 12–29.
- Benowitz, N. L., Jacob, P., Fong, I., & Gupta, S. (1994). Nicotine metabolic profile in man: Comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 268(1), 296–303.
- Benowitz, Neal L. (1988). Pharmacologic Aspects of Cigarette Smoking and Nicotine Addiction. *New England Journal of Medicine*, 319(20), 1318–1330. <https://doi.org/10.1056/NEJM198811173192005>
- Benowitz, Neal L. (2010). Nicotine Addiction. *The New England Journal of Medicine*, 362(24), 2295–2303. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0809890>
- Benowitz, Neal L., Hukkanen, J., & Jacob, P. (2009). Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 192, 29–60. https://doi.org/10.1007/978-3-540-69248-5_2

- Benowitz, Neal L., Lake, T., Keller, K. H., & Lee, B. L. (1987). Prolonged absorption with development of tolerance to toxic effects after cutaneous exposure to nicotine. *Clinical Pharmacology e Therapeutics*, 42(1), 119–120. <https://doi.org/10.1038/clpt.1987.119>
- Blakeslee, B., & McCourt, M. E. (2015). A common theoretical framework for brightness and lightness perception. *Perception*, 44(4), 359–362.
- Blakeslee, B., Reetz, D., & McCourt, M. E. (2008). Coming to Terms with Lightness and Brightness: Effects of Stimulus Configuration and Instructions on Brightness and Lightness Judgments. *Journal of Vision*, 8(11), 3.1-314. <https://doi.org/10.1167/8.11.3>
- Bodis-Wollner, I. (1990). Visual deficits related to dopamine deficiency in experimental animals and Parkinson's disease patients. *Trends in Neurosciences*, 13(7), 296–302.
- Bonnardel, V., Bellemare, H., & Mollon, J. D. (1996). Measurements of human sensitivity to comb-filtered spectra. *Vision Research*, 36(17), 2713–2720. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(96\)00014-4](https://doi.org/10.1016/0042-6989(96)00014-4)
- Bounds, G. W. (1953). The electroretinogram; a review of the literature. *A.M.A. Archives of Ophthalmology*, 49(1), 63–89. <https://doi.org/10.1001/archophth.1953.00920020066009>
- Bramwell, D. I., & Hurlbert, A. C. (1996). Measurements of colour constancy by using a forced-choice matching technique. *Perception*, 25(2), 229–241. <https://doi.org/10.1068/p250229>
- Bruce, V., Green, P. R., & Georgeson, M. A. (2003). *Visual Perception: Physiology, Psychology, e Ecology*. Psychology Press.
- Bubl, E., Ebert, D., Kern, E., van Elst, L. T., & Bach, M. (2012). Effect of antidepressive therapy on retinal contrast processing in depressive disorder. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 201, 151–158. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.111.100560>
- Bubl, E., Kern, E., Ebert, D., Riedel, A., Tebartz van Elst, L., & Bach, M. (2015). Retinal dysfunction of contrast processing in major depression also apparent in cortical activity. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 265(4), 343–350. <https://doi.org/10.1007/s00406-014-0573-x>
- Bulens, C., Meerwaldt, J. D., van der Wildt, G. J., & Keemink, C. J. (1989). Visual contrast sensitivity in drug-induced Parkinsonism. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 52(3), 341–345.
- Campbell, F. W., & Maffei, L. (1974). Contrast and spatial frequency. *Scientific American*, 231(5), 106–114. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican1174-106>
- Chamberlain, S. R., Odlaug, B. L., Schreiber, L. R. N., & Grant, J. E. (2012). Association between tobacco smoking and cognitive functioning in young adults. *The American*

- Journal on Addictions*, 21 Suppl 1, S14-19. <https://doi.org/10.1111/j.1521-0391.2012.00290.x>
- Changeux, J.-P. (2012). The Nicotinic Acetylcholine Receptor: The Founding Father of the Pentameric Ligand-gated Ion Channel Superfamily. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(48), 40207–40215. <https://doi.org/10.1074/jbc.R112.407668>
- Changeux, J.-P. (2018). The nicotinic acetylcholine receptor: A typical ‘allosteric machine.’ *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1749). <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0174>
- Changeux, J.-P., Galzi, J.-L., Devillers-Thiéry, A., & Bertrand, D. (1992). The functional architecture of the acetylcholine nicotinic receptor explored by affinity labelling and site-directed mutagenesis. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 25(4), 395–432. <https://doi.org/10.1017/S0033583500004352>
- Changeux, J.-P., Kasai, M., & Lee, C.-Y. (1970). Use of a Snake Venom Toxin to Characterize the Cholinergic Receptor Protein*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 67(3), 1241–1247.
- Cheng, A. C., Pang, C. P., Leung, A. T., Chua, J. K., Fan, D. S., & Lam, D. S. (2000). The association between cigarette smoking and ocular diseases. *Hong Kong Medical Journal = Xianggang Yi Xue Za Zhi*, 6(2), 195–202.
- Chernyavsky, A. I., Arredondo, J., Marubio, L. M., & Grando, S. A. (2004). Differential regulation of keratinocyte chemokinesis and chemotaxis through distinct nicotinic receptor subtypes. *Journal of Cell Science*, 117(23), 5665–5679. <https://doi.org/10.1242/jcs.01492>
- Claeys, K. G., Dupont, P., Cornette, L., Sunaert, S., Van Hecke, P., De Schutter, E., & Orban, G. A. (2004). Color discrimination involves ventral and dorsal stream visual areas. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 14(7), 803–822. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh040>
- Connolly, C., & Fleiss, T. (1997). A study of efficiency and accuracy in the transformation from RGB to CIELAB color space. *IEEE Transactions on Image Processing: A Publication of the IEEE Signal Processing Society*, 6(7), 1046–1048. <https://doi.org/10.1109/83.597279>
- Conti-Tronconi, B. M., & Raftery, M. A. (1982). The nicotinic cholinergic receptor: Correlation of molecular structure with functional properties. *Annual Review of Biochemistry*, 51, 491–530. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.51.070182.002423>
- Conway, B. R., Eskew, R. T., Martin, P. R., & Stockman, A. (2018). A tour of contemporary color vision research. *Vision Research*, 151, 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2018.06.009>

- Cornsweet, T. (2012). *Visual Perception*. Academic Press.
- Corringer, P. J., Le Novère, N., & Changeux, J. P. (2000). Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 40, 431–458.
<https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.40.1.431>
- Cranwell, M. B., Pearce, B., Loveridge, C., & Hurlbert, A. C. (2015). Performance on the Farnsworth-Munsell 100-Hue Test Is Significantly Related to Nonverbal IQFM100 Test Significantly Related to NVIQ. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*, 56(5), 3171–3178. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-16094>
- Crognale, M. A., Duncan, C. S., Shoenhard, H., Peterson, D. J., & Berryhill, M. E. (2013). The locus of color sensation: Cortical color loss and the chromatic visual evoked potential. *Journal of Vision*, 13(10), 15–15. <https://doi.org/10.1167/13.10.15>
- Cruikshanks, K. J., Klein, R., Klein, B. E. K., Wiley, T. L., Nondahl, D. M., & Tweed, T. S. (1998). Cigarette Smoking and Hearing Loss: The Epidemiology of Hearing Loss Study. *JAMA*, 279(21), 1715–1719. <https://doi.org/10.1001/jama.279.21.1715>
- Cullom, M. E., Heher, K. L., Miller, N. R., Savino, P. J., & Johns, D. R. (1993). Leber's hereditary optic neuropathy masquerading as tobacco-alcohol amblyopia. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill.: 1960)*, 111(11), 1482–1485.
<https://doi.org/10.1001/archopht.1993.01090110048021>
- Damsma, G., Day, J., & Fibiger, H. C. (1989). Lack of tolerance to nicotine-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *European Journal of Pharmacology*, 168(3), 363–368. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(89\)90798-X](https://doi.org/10.1016/0014-2999(89)90798-X)
- Dani, J. A. (2015a). Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Structure and Function and Response to Nicotine. *International Review of Neurobiology*, 124, 3–19.
<https://doi.org/10.1016/bs.irm.2015.07.001>
- Dani, J. A. (2015b). Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Structure and Function and Response to Nicotine. *International Review of Neurobiology*, 124, 3–19.
<https://doi.org/10.1016/bs.irm.2015.07.001>
- Drover, J. R., Wyatt, L. M., Stager, D. R., & Birch, E. E. (2009). The Teller Acuity Cards Are Effective in Detecting Amblyopia. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 86(6), 755–759.
<https://doi.org/10.1097/OPX.0b013e3181a523a3>
- Echeverria, V., Zeitlin, R., Burgess, S., Patel, S., Barman, A., Thakur, G., Mamcarz, M., Wang, L., Sattelle, D. B., Kirschner, D. A., Mori, T., Leblanc, R. M., Prabhakar, R., & Arendash, G. W. (2011). Cotinine reduces amyloid- β aggregation and improves memory in Alzheimer's disease mice. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 24(4), 817–835. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-102136>

- Elliot, A. J., & Maier, M. A. (2014). Color Psychology: Effects of Perceiving Color on Psychological Functioning in Humans. *Annual Review of Psychology*, 65(1), 95–120. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115035>
- Elliott, D. B., & Whitaker, D. (1992). Clinical contrast sensitivity chart evaluation. *Ophthalmic e Physiological Optics: The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 12(3), 275–280.
- El-Shazly, A. A. E.-F., Farweez, Y. A. T., Elewa, L. S., Elzankalony, Y. A., & Farweez, B. A. T. (2017, April 12). *Effect of Active and Passive Smoking on Retinal Nerve Fibre Layer and Ganglion Cell Complex* [Research Article]. *Journal of Ophthalmology*; Hindawi. <https://doi.org/10.1155/2017/6354025>
- Erdem, U., Gundogan, F. C., Dinc, U. A., Yolcu, U., Ilhan, A., & Altun, S. (2015). Acute Effect of Cigarette Smoking on Pupil Size and Ocular Aberrations: A Pre- and Postsmoking Study. *Journal of Ophthalmology*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/625470>
- Fernandes, T. M. P., Almeida, N. L., Dias, A. L. A., Nogueira, R. M. T. B. L., & Santos, N. A. (2017). Use of the MacAdam *Ellipses* for psychophysical evaluation of color discrimination in chronic heavy smokers. *Psychology e Neuroscience*, 10(4), 437–448. <https://doi.org/10.1037/pne0000096>
- Fernandes, T. M. P., Andrade, S. M., Andrade, M. J. O., Nogueira, R. M. T. B. L., & Santos, N. A. (2017). Colour discrimination thresholds in type 1 Bipolar Disorder: A pilot study. *Scientific Reports*, 7(1), 16405. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16752-0>
- Fernandes, T. M. P., Silverstein, S. M., Almeida, N. L. de, & Santos, N. A. D. (2018). Psychophysical evaluation of contrast sensitivity using Gabor patches in tobacco addiction. *Journal of Clinical Neuroscience: Official Journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2018.08.034>
- Fernandes, T. P., Santos, N. A., & Paramei, G. V. (2020). Cambridge Colour Test: Reproducibility in normal trichromats. *JOSA A*, 37(4), A70–A80. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.380306>
- Fernandes, Thiago P., Butler, P. D., Rodrigues, S. J., Silva, G. M., Anchieta, M. V., Souto, J. J. S., Gomes, G. H. V., Almeida, N. L., & Santos, N. A. (2020). Short-term effects of nicotine gum on facial detection in healthy nonsmokers: A pilot randomized controlled trial. *Journal of Addictive Diseases*, 1–11. <https://doi.org/10.1080/10550887.2020.1805093>
- Fernandes, Thiago P., Hovis, J. K., Almeida, N., de Souza Souto, J. J., Bonifacio, T. A., Rodrigues, S., Silva, G. M., Andrade, M. O., Silva, J. B., Gomes, G., Oliveira, M. E., Holanda, E., Gomes, M. E., Anchieta, M. V., Martins, M. L., & Santos, N. A. dos. (2020). Effects of Nicotine Gum Administration on Vision (ENIGMA-Vis): Study

- Protocol of a Double-Blind, Randomized and Controlled Clinical Trial. *Frontiers in Human Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.00314>
- Fernandes, Thiago P., Shaqiri, A., Brand, A., Nogueira, R. L., Herzog, M. H., Roinishvili, M., Santos, N. A., & Chkonia, E. (2019). Schizophrenia patients using atypical medication perform better in visual tasks than patients using typical medication. *Psychiatry Research*. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2019.03.008>
- Fernandes, T. P., Almeida, N. L. de, Butler, P. D., & Santos, N. A. (2019). Spatial contrast sensitivity: Effects of reliability, test–retest repeatability and sample size using the Metropsis software. *Eye*, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41433-019-0477-0>
- Fisher, K. D., Carr, C. J., Huff, J. E., & Huber, T. E. (1970). Dark adaptation and night vision. *Federation Proceedings*, 29(5), 1605–1638.
- Freedman, D. A. (1981). Bootstrapping Regression Models. *The Annals of Statistics*, 9(6), 1218–1228. <https://doi.org/10.1214/aos/1176345638>
- Fusco, M. D., Becchetti, A., Patrignani, A., Annesi, G., Gambardella, A., Quattrone, A., Ballabio, A., Wanke, E., & Casari, G. (2000). The nicotinic receptor $\beta 2$ subunit is mutant in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nature Genetics*, 26(3), 275–276. <https://doi.org/10.1038/81566>
- Ganguly, K., Levänen, B., Palmberg, L., Åkesson, A., & Lindén, A. (2018). Cadmium in tobacco smokers: A neglected link to lung disease? *European Respiratory Review*, 27(147). <https://doi.org/10.1183/16000617.0122-2017>
- Giorgi, C., Baldassari, F., Bononi, A., Bonora, M., De Marchi, E., Marchi, S., Missiroli, S., Patergnani, S., Rimessi, A., Suski, J. M., Wieckowski, M. R., & Pinton, P. (2012). Mitochondrial Ca^{2+} and apoptosis. *Cell Calcium*, 52(1), 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2012.02.008>
- Good, G. W., Schepler, A., & Nichols, J. J. (2005). The reliability of the Lanthony Desaturated D-15 test. *Optometry and Vision Science: Official Publication of the American Academy of Optometry*, 82(12), 1054–1059.
- Gori, S., & Facoetti, A. (2014). Perceptual learning as a possible new approach for remediation and prevention of developmental dyslexia. *Vision Research*, 99, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2013.11.011>
- Govind, A. P., Vezina, P., & Green, W. N. (2009). Nicotine-induced Upregulation of Nicotinic Receptors: Underlying Mechanisms and Relevance to Nicotine Addiction. *Biochemical Pharmacology*, 78(7), 756–765. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.06.011>
- Gupta, S. K., Benowitz, N. L., Jacob, P., Rolf, C. N., & Gorsline, J. (1993). Bioavailability and absorption kinetics of nicotine following application of a transdermal system. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 36(3), 221–227.

- Hall, L. M., Hellmer, C. B., Koehler, C. C., & Ichinose, T. (2019). Bipolar Cell Type-Specific Expression and Conductance of Alpha-7 Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Mouse Retina. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*, 60(5), 1353–1361. <https://doi.org/10.1167/iov.18-25753>
- Hammond, B. R., Wooten, B. R., & Snodderly, D. M. (1996). Cigarette Smoking and Retinal Carotenoids: Implications for Age-related Macular Degeneration. *Vision Research*, 36(18), 3003–3009. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(96\)00008-9](https://doi.org/10.1016/0042-6989(96)00008-9)
- Han, Z.-Y., Zoli, M., Cardona, A., Bourgeois, J.-P., Changeux, J.-P., & Le Novère, N. (2003). Localization of [3H]nicotine, [3H]cytisine, [3H]epibatidine, and [125I]alpha-bungarotoxin binding sites in the brain of *Macaca mulatta*. *The Journal of Comparative Neurology*, 461(1), 49–60. <https://doi.org/10.1002/cne.10659>
- Hartmann-Boyce, J., Chepkin, S. C., Ye, W., Bullen, C., & Lancaster, T. (2018). Nicotine replacement therapy versus control for smoking cessation. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018(5). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000146.pub5>
- Hasrod, N., & Rubin, A. (2019). The Cambridge Colour Test: Reliability of discrimination Trivectors in colour space. *African Vision and Eye Health*, 78(1), 10. <https://doi.org/10.4102/aveh.v78i1.451>
- Helmholtz, H. (1852). LXXXI. On the theory of compound colours. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 4(28), 519–534. <https://doi.org/10.1080/14786445208647175>
- Henley, J. M., Lindstrom, J. M., & Oswald, R. E. (1986). Acetylcholine receptor synthesis in retina and transport to optic tectum in goldfish. *Science*, 232(4758), 1627–1629. <https://doi.org/10.1126/science.3715468>
- Herzog, M. H. & Fahle, M. (1997). The role of feedback in learning a vernier discrimination task. *Vision Research*, 37(15), 2133–2141. [https://doi.org/10.1016/S0042-6989\(97\)00043-6](https://doi.org/10.1016/S0042-6989(97)00043-6)
- Hetherington, R. (1954). The Snellen chart as a test of visual acuity. *Psychologische Forschung*, 24(4), 349–357. <https://doi.org/10.1007/BF00422033>
- Hoon, M., Okawa, H., Della Santina, L., & Wong, R. O. L. (2014). Functional architecture of the retina: Development and disease. *Progress in Retinal and Eye Research*, 42, 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2014.06.003>
- Hoover, F. & Goldman, D. (1992). Temporally correlated expression of nAChR genes during development of the mammalian retina. *Experimental Eye Research*, 54(4), 561–571. [https://doi.org/10.1016/0014-4835\(92\)90135-f](https://doi.org/10.1016/0014-4835(92)90135-f)
- Hróbjartsson, A., Emanuelsson, F., Skou Thomsen, A. S., Hilden, J., & Brorson, S. (2014). Bias due to lack of patient blinding in clinical trials. A systematic review of trials

- randomizing patients to blind and nonblind sub-studies. *International Journal of Epidemiology*, 43(4), 1272–1283. <https://doi.org/10.1093/ije/dyu115>
- Illumination, I. C. on. (1987). *Methods of Characterizing Illuminance Meters and Luminance Meters: Performance, Characteristics and Specifications*. Central Bureau of the CIE.
- Improgo, M. R. D., Scofield, M. D., Tapper, A. R., & Gardner, P. D. (2010). From smoking to lung cancer: The CHRNA5/A3/B4 connection. *Oncogene*, 29(35), 4874–4884. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.256>
- Itier, V. & Bertrand, D. (2001). Neuronal nicotinic receptors: From protein structure to function. *FEBS Letters*, 504(3), 118–125. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)02702-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02702-8)
- Iwamoto, K., Mata, D., Linn, D. M., & Linn, C. L. (2013). Neuroprotection of rat retinal ganglion cells mediated through alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Neuroscience*, 237, 184–198. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.02.003>
- Jarvis, M J, Russell, M. A., Benowitz, N. L., & Feyerabend, C. (1988). Elimination of cotinine from body fluids: Implications for noninvasive measurement of tobacco smoke exposure. *American Journal of Public Health*, 78(6), 696–698.
- Jarvis, Martin J., Boreham, R., Primatesta, P., Feyerabend, C., & Bryant, A. (2001). Nicotine Yield From Machine-Smoked Cigarettes and Nicotine Intakes in Smokers: Evidence From a Representative Population Survey. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 93(2), 134–138. <https://doi.org/10.1093/jnci/93.2.134>
- Jiao, Y., Cao, Y., Zheng, Z., Liu, M., & Guo, X. (2019). Massive expansion and diversity of nicotinic acetylcholine receptors in lophotrochozoans. *BMC Genomics*, 20(1), 937. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6278-9>
- Kang, I., Reem, R. E., Kaczmarowski, A. L., & Malpeli, J. G. (2009). Contrast Sensitivity of Cats and Humans in Scotopic and Mesopic Conditions. *Journal of Neurophysiology*, 102(2), 831–840. <https://doi.org/10.1152/jn.90641.2008>
- Karaarslan, C. (2019). Leber's Hereditary Optic Neuropathy as a Promising Disease for Gene Therapy Development. *Advances in Therapy*, 36(12), 3299–3307. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01113-2>
- Karama, S., Ducharme, S., Corley, J., Chouinard-Decorte, F., Starr, J. M., Wardlaw, J. M., Bastin, M. E., & Deary, I. J. (2015). Cigarette smoking and thinning of the brain's cortex. *Molecular Psychiatry*, 20(6), 778–785. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.187>
- Karlin, A. (2002). Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. *Nature Reviews. Neuroscience*, 3(2), 102–114. <https://doi.org/10.1038/nrn731>
- Kauffmann, L., Ramanoël, S., & Peyrin, C. (2014). The neural bases of spatial frequency processing during scene perception. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00037>

- Kinnear, P. R. & Sahraie, A. (2002). New Farnsworth-Munsell 100 hue test norms of normal observers for each year of age 5–22 and for age decades 30–70. *British Journal of Ophthalmology*, 86(12), 1408–1411. <https://doi.org/10.1136/bjo.86.12.1408>
- Kniestedt, C. & Stamper, R. L. (2003). Visual acuity and its measurement. *Ophthalmology Clinics of North America*, 16(2), 155–17, v. [https://doi.org/10.1016/s0896-1549\(03\)00013-0](https://doi.org/10.1016/s0896-1549(03)00013-0)
- Koçak-Altıntaş, A. G., Satana, B., Koçak, I., & Duman, S. (2000). Visual acuity and color vision deficiency in amblyopia. *European Journal of Ophthalmology*, 10(1), 77–81. <https://doi.org/10.1177/112067210001000113>
- Kolb, H. (1995). Outer Plexiform Layer. In H. Kolb, E. Fernandez, & R. Nelson (Eds.), *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. University of Utah Health Sciences Center. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11518/>
- Kolb, H. & Famigilietti, E. V. (1974). Rod and Cone Pathways in the Inner Plexiform Layer of Cat Retina. *Science*, 186(4158), 47–49. <https://doi.org/10.1126/science.186.4158.47>
- Kondo, M. & Sieving, P. A. (2001). Primate photopic sine-wave flicker ERG: Vector modeling analysis of component origins using glutamate analogs. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*, 42(1), 305–312.
- Kunchulia, M., Pilz, K. S., & Herzog, M. H. (2014). Small effects of smoking on visual spatiotemporal processing. *Scientific Reports*, 4, 7316. <https://doi.org/10.1038/srep07316>
- Lacerda, E. M. da C. B., Ventura, D. F., & Silveira, L. C. de L. (2011). Visual assessment by psychophysical methods of people subjected to occupational exposure to organic solvents. *Psicologia USP*, 22(1), 117–145. <https://doi.org/10.1590/S0103-65642011005000011>
- Laffan, R. J. & Borison, H. L. (1957). Emetic Action of Nicotine and Lobeline. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 121(4), 468–476.
- Lakens, D. (2013). Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: A practical primer for t-tests and ANOVAs. *Frontiers in Psychology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2013.00863>
- Lakowski, R. (1969). Theory and practice of colour vision testing: A review. Part 2. *British Journal of Industrial Medicine*, 26(4), 265–288.
- Lee, T.-W., Wachtler, T., & Sejnowski, T. J. (2002). Color opponency is an efficient representation of spectral properties in natural scenes. *Vision Research*, 42(17), 2095–2103.

- Lester, D. B., Rogers, T. D., & Blaha, C. D. (2010). Acetylcholine-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 16(3), 137–162. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00142.x>
- Leventhal, A. M. & Zvolensky, M. J. (2015). Anxiety, Depression, and Cigarette Smoking: A Transdiagnostic Vulnerability Framework to Understanding Emotion-Smoking Comorbidity. *Psychological Bulletin*, 141(1), 176–212. <https://doi.org/10.1037/bul0000003>
- Levin, E. D. (2001). *Nicotinic Receptors in the Nervous System*. CRC Press.
- Levy, J. & Trevarthen, C. (1981). Color-matching, color-naming and color-memory in split-brain patients. *Neuropsychologia*, 19(4), 523–541. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(81\)90019-1](https://doi.org/10.1016/0028-3932(81)90019-1)
- Lindblad, B. E., Håkansson, N., & Wolk, A. (2014). Smoking Cessation and the Risk of Cataract: A Prospective Cohort Study of Cataract Extraction Among Men. *JAMA Ophthalmology*, 132(3), 253–257. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2013.6669>
- Lisko, J. G., Tran, H., Stanfill, S. B., Blount, B. C., & Watson, C. H. (2015). Chemical Composition and Evaluation of Nicotine, Tobacco Alkaloids, pH and Selected Flavors in e-Cigarette Cartridges and Refill Solutions. *Nicotine & Tobacco Research : Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 17(10), 1270–1278. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntu279>
- Liu, C.-S. J., Bryan, R. N., Miki, A., Woo, J. H., Liu, G. T., & Elliott, M. A. (2006). Magnocellular and Parvocellular Visual Pathways Have Different Blood Oxygen Level-Dependent Signal Time Courses in Human Primary Visual Cortex. *American Journal of Neuroradiology*, 27(8), 1628–1634.
- MacAdam, D. L. (1942). Visual Sensitivities to Color Differences in Daylight*. *JOSA*, 32(5), 247–274. <https://doi.org/10.1364/JOSA.32.000247>
- Macadam, D. L. (1953). Dependence of color-mixture functions on choice of primaries. *Journal of the Optical Society of America*, 43(6), 533–538. <https://doi.org/10.1364/josa.43.000533>
- Maex, R., Grinevich, V. P., Grinevich, V., Budygin, E., Bencherif, M., & Gutkin, B. (2014). Understanding the Role $\alpha 7$ Nicotinic Receptors Play in Dopamine Efflux in Nucleus Accumbens. *ACS Chemical Neuroscience*, 5(10), 1032–1040. <https://doi.org/10.1021/cn500126t>
- Maloney, L. T. & Wandell, B. A. (1986). Color constancy: A method for recovering surface spectral reflectance. *JOSA A*, 3(1), 29–33. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.3.000029>
- Marriott, A. M., Cox, B. C., Yasuda, R. P., McIntosh, J. M., Xiao, Y., Wolfe, B. B., & Kellar, K. J. (2005). Nicotinic cholinergic receptors in the rat retina: Simple and mixed

- heteromeric subtypes. *Molecular Pharmacology*, 68(6), 1656–1668.
<https://doi.org/10.1124/mol.105.012369>
- McDermott, K. C. & Webster, M. A. (2012). Uniform color spaces and natural image statistics. *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, Image Science, and Vision*, 29(2), A182–A187.
- McNeil, J. J., Piccenna, L., & Ioannides-Demos, L. L. (2010). Smoking cessation-recent advances. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 24(4), 359–367.
<https://doi.org/10.1007/s10557-010-6246-8>
- Metherate, R. (2004). Nicotinic Acetylcholine Receptors in Sensory Cortex. *Learning e Memory*, 11(1), 50–59. <https://doi.org/10.1101/lm.69904>
- Mollon, J. D. & Regan, B. C. (2000). *Cambridge Colour Test Handbook*.
<https://sites.oxxy.edu/clint/physio/article/CAMBRIDGECOLOURTESTHandbook.pdf>
- Mollon, John D., Bosten, J. M., Peterzell, D. H., & Webster, M. A. (2017). Individual differences in visual science: What can be learned and what is good experimental practice? *Vision Research*, 141, 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2017.11.001>
- Mr, J., Ce, J., A, N.-A., & Ea, P. (2018). Racial/Ethnic Differences in Duration of Smoking Among Former Smokers in the National Health and Nutrition Examination Surveys. *Nicotine e Tobacco Research : Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 20(3), 303–311. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntw326>
- Naifeh, J. & Kaufman, E. J. (2020). Color Vision. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470227/>
- Naser, N. T., Loop, M., Than, T., Varghese, S., & Hartmann, E. E. (2011). Color Vision: Effects of Nicotine Gum in Non-Smokers. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*, 52(14), 4902–4902.
- Neal, M. J., Cunningham, J. R., & Matthews, K. L. (2001). Activation of nicotinic receptors on GABAergic amacrine cells in the rabbit retina indirectly stimulates dopamine release. *Visual Neuroscience*, 18(1), 55–64.
- Nork, T. M. (2000). Acquired color vision loss and a possible mechanism of ganglion cell death in glaucoma. *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 98, 331–363.
- Oharazawa, H., Igarashi, T., Yokota, T., Fujii, H., Suzuki, H., Machide, M., Takahashi, H., Ohta, S., & Ohsawa, I. (2010). Protection of the Retina by Rapid Diffusion of Hydrogen: Administration of Hydrogen-Loaded Eye Drops in Retinal Ischemia–Reperfusion Injury. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*, 51(1), 487–492.
<https://doi.org/10.1167/iovs.09-4089>
- Paramei, G. V. & Oakley, B. (2014). Variation of color discrimination across the life span. *JOSA A*, 31(4), A375–A384. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.31.00A375>

- Partridge, J. G., Apparsundaram, S., Gerhardt, G. A., Ronesi, J., & Lovinger, D. M. (2002). Nicotinic Acetylcholine Receptors Interact with Dopamine in Induction of Striatal Long-Term Depression. *The Journal of Neuroscience*, 22(7), 2541–2549.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-07-02541.2002>
- Pasmanter, N. & Munakomi, S. (2020). Physiology, Color Perception. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544355/>
- Paterson, D. & Nordberg, A. (2000). Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Progress in Neurobiology*, 61(1), 75–111.
- Pauwels, R. A., Löfdahl, C.-G., Laitinen, L. A., Schouten, J. P., Postma, D. S., Pride, N. B., & Ohlsson, S. V. (1999). Long-Term Treatment with Inhaled Budesonide in Persons with Mild Chronic Obstructive Pulmonary Disease Who Continue Smoking. *New England Journal of Medicine*, 340(25), 1948–1953.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199906243402503>
- Pedersen, J. E., Bergqvist, C. A., & Larhammar, D. (2019). Evolution of vertebrate nicotinic acetylcholine receptors. *BMC Evolutionary Biology*, 19(1), 38.
<https://doi.org/10.1186/s12862-018-1341-8>
- Pedigo, N. W. & Brizzee, K. R. (1985). Muscarinic cholinergic receptors in area postrema and brainstem areas regulating emesis. *Brain Research Bulletin*, 14(2), 169–177.
[https://doi.org/10.1016/0361-9230\(85\)90076-0](https://doi.org/10.1016/0361-9230(85)90076-0)
- Pelli, D. G. & Farell, B. (1999). Why use noise? *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, Image Science, and Vision*, 16(3), 647–653.
- Pelli, Denis G. & Bex, P. (2013). Measuring contrast sensitivity. *Vision Research*, 9, 10–14.
<https://doi.org/10.1016/j.visres.2013.04.015>
- Pérez-de-Arcelus, M., Toledo, E., Martínez-González, M. Á., Martín-Calvo, N., Fernández-Montero, A., & Moreno-Montañés, J. (2017). Smoking and incidence of glaucoma. *Medicine*, 96(1). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000005761>
- Picciotto, M. R. (2003). Nicotine as a modulator of behavior: Beyond the inverted U. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24(9), 493–499. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(03\)00230-X](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(03)00230-X)
- Picciotto, M. R., Addy, N. A., Mineur, Y. S., & Brunzell, D. H. (2008). It's not “either/or”: Activation and desensitization of nicotinic acetylcholine receptors both contribute to behaviors related to nicotine addiction and mood. *Progress in Neurobiology*, 84(4), 329–342. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2007.12.005>
- Placzek, A. N., Zhang, T. A., & Dani, J. A. (2009). Nicotinic mechanisms influencing synaptic plasticity in the hippocampus. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(6), 752–760.
<https://doi.org/10.1038/aps.2009.39>

- Poincenot, L., Pearson, A. L., & Karanjia, R. (2020). Demographics of a Large International Population of Patients Affected by Leber's Hereditary Optic Neuropathy. *Ophthalmology*, 127(5), 679–688. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2019.11.014>
- Quik, M., Perez, X. A., & Bordia, T. (2012). Nicotine as a potential neuroprotective agent for Parkinson's disease. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*, 27(8), 947–957. <https://doi.org/10.1002/mds.25028>
- Rizzuto, R., Pinton, P., Ferrari, D., Chami, M., Szabadkai, G., Magalhães, P. J., Virgilio, F. D., & Pozzan, T. (2003). Calcium and apoptosis: Facts and hypotheses. *Oncogene*, 22(53), 8619–8627. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207105>
- Rothlin, C. V., Katz, E., Verbitsky, M., & Elgoyhen, A. B. (1999). The alpha9 nicotinic acetylcholine receptor shares pharmacological properties with type A gamma-aminobutyric acid, glycine, and type 3 serotonin receptors. *Molecular Pharmacology*, 55(2), 248–254. <https://doi.org/10.1124/mol.55.2.248>
- Rubboli, F., Court, J. A., Sala, C., Morris, C., Chini, B., Perry, E., & Clementi, F. (1994). Distribution of Nicotinic Receptors in the Human Hippocampus and Thalamus. *European Journal of Neuroscience*, 6(10), 1596–1604. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1994.tb00550.x>
- Russell, M. A. (1976). Low-tar medium-nicotine cigarettes: A new approach to safer smoking. *British Medical Journal*, 1(6023), 1430–1433.
- Russell, M. A., Feyerabend, C., & Cole, P. V. (1976). Plasma nicotine levels after cigarette smoking and chewing nicotine gum. *British Medical Journal*, 1(6017), 1043–1046. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.6017.1043>
- Russell, M. A. H. (1980). Nicotine intake and its regulation. *Journal of Psychosomatic Research*, 24(5), 253–264. [https://doi.org/10.1016/0022-3999\(80\)90015-X](https://doi.org/10.1016/0022-3999(80)90015-X)
- Santos, N. A. dos & Simas, M. L. de B. (2001a). Contrast Sensitivity Function: Indicator of the Visual Perception of Form and of the Spatial Resolution. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 14(3), 589–597. <https://doi.org/10.1590/S0102-79722001000300014>
- Santos, N. A. dos & Simas, M. L. de B. (2001b). Perception and visual processing of form: Discussing contemporary models. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 14(1), 157–166. <https://doi.org/10.1590/S0102-79722001000100013>
- Sastry, B. V. & Hemontolor, M. E. (1998). Influence of nicotine and cotinine on retinal phospholipase A2 and its significance to macular function. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics: The Official Journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 14(5), 447–458. <https://doi.org/10.1089/jop.1998.14.447>

- Saunders, J. W. & Bush, L. P. (1979). Nicotine Biosynthetic Enzyme Activities in *Nicotiana tabacum* L. Genotypes with Different Alkaloid Levels. *Plant Physiology*, 64(2), 236–240. <https://doi.org/10.1104/pp.64.2.236>
- Schmidt, B. P., Neitz, M., & Neitz, J. (2014). Neurobiological hypothesis of color appearance and hue perception. *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, Image Science, and Vision*, 31(4), A195–A207.
- Schrauf, M. & Stern, C. (2001). The visual resolution of Landolt-C optotypes in human subjects depends on their orientation: The “gap-down” effect. *Neuroscience Letters*, 299(3), 185–188. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)01505-1](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)01505-1)
- Seeger, P. & Gabrielsson, A. (1968). Applicability of the Cochran Q test and the F test for statistical analysis of dichotomous data for dependent samples. *Psychological Bulletin*, 69(4), 269–277. <https://doi.org/10.1037/h0025667>
- Sergejeva, O., Botov, R., Liutkevičienė, R., & Kriauciūnienė, L. (2016). Genetic factors associated with the development of age-related macular degeneration. *Medicina*, 52(2), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.medici.2016.02.004>
- Shapley, R. M. & Lam, D. M.-K. (1993). *Contrast Sensitivity*. MIT Press.
- Shinomori, K. & Werner, J. S. (2012). Aging of human short-wave cone pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(33), 13422–13427. <https://doi.org/10.1073/pnas.1119770109>
- Simmons, D. R., Robertson, A. E., McKay, L. S., Toal, E., McAleer, P., & Pollick, F. E. (2009). Vision in autism spectrum disorders. *Vision Research*, 49(22), 2705–2739. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2009.08.005>
- Simunovic, M. P. (2016). Acquired color vision deficiency. *Survey of Ophthalmology*, 61(2), 132–155. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2015.11.004>
- Sloan, L. L. (1959). New test charts for the measurement of visual acuity at far and near distances. *American Journal of Ophthalmology*, 48, 807–813. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(59\)90626-9](https://doi.org/10.1016/0002-9394(59)90626-9)
- Smith, W. S. (2015). Contrast constancy revisited: The perceived contrast of sinusoidal gratings above threshold. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 68(2), 363–380. <https://doi.org/10.1080/17470218.2014.944919>
- Stefan, A. M., Gronau, Q. F., Schönbrodt, F. D., & Wagenmakers, E.-J. (2019). A tutorial on Bayes Factor Design Analysis using an informed prior. *Behavior Research Methods*, 51(3), 1042–1058. <https://doi.org/10.3758/s13428-018-01189-8>
- Stockman, A., Plummer, D. J., & Montag, E. D. (2005). Spectrally opponent inputs to the human luminance pathway: Slow +M and -L cone inputs revealed by intense long-

- wavelength adaptation. *The Journal of Physiology*, 566(Pt 1), 61–76.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.084046>
- Swanson, L. W., Simmons, D. M., Whiting, P. J., & Lindstrom, J. (1987). Immunohistochemical localization of neuronal nicotinic receptors in the rodent central nervous system. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 7(10), 3334–3342.
- Tabachnick, B. G. & Fidell, L. S. (2007). *Using multivariate statistics*, 5th ed. Allyn e Bacon/Pearson Education.
- Talhout, R., Schulz, T., Florek, E., van Benthem, J., Wester, P., & Opperhuizen, A. (2011). Hazardous Compounds in Tobacco Smoke. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(2), 613–628. <https://doi.org/10.3390/ijerph8020613>
- Terry, A. V. & Callahan, P. M. (2018). Nicotinic Acetylcholine Receptor Ligands, Cognitive Function, and Preclinical Approaches to Drug Discovery. *Nicotine e Tobacco Research*, 21(3), 383–394. <https://doi.org/10.1093/ntr/nty166>
- Thayaparan, K., Crossland, M. D., & Rubin, G. S. (2007). Clinical assessment of two new contrast sensitivity charts. *The British Journal of Ophthalmology*, 91(6), 749–752. <https://doi.org/10.1136/bjo.2006.109280>
- Türkcü, F. M., Yüksel, H., Sahin, A., Cinar, Y., Cingü, K., Arı, S., Sahin, M., Altındağ, S., & Caça, I. (2014). Effects of smoking on visual acuity of central serous chorioretinopathy patients. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 33(2), 115–119. <https://doi.org/10.3109/15569527.2013.810633>
- Valentine, G. & Sofuoglu, M. (2018). Cognitive Effects of Nicotine: Recent Progress. *Current Neuropsychopharmacology*, 16(4), 403–414. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666171103152136>
- van Hateren, J. & Lamb, T. (2006). The photocurrent response of human cones is fast and monophasic. *BMC Neuroscience*, 7(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-7-34>
- Varghese, S. B., Reid, J. C., Hartmann, E. E., & Keyser, K. T. (2011). The Effects of Nicotine on the Human Electroretinogram. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*, 52(13), 9445–9451. <https://doi.org/10.1167/iovs.11-7874>
- Velilla, S., García-Medina, J. J., García-Layana, A., Dolz-Marco, R., Pons-Vázquez, S., Pinazo-Durán, M. D., Gómez-Ulla, F., Arévalo, J. F., Díaz-Llopis, M., & Gallego-Pinazo, R. (2013). Smoking and Age-Related Macular Degeneration: Review and Update. *Journal of Ophthalmology*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/895147>
- Vernino, S., Amador, M., Luetje, C. W., Patrick, J., & Dani, J. A. (1992). Calcium modulation and high calcium permeability of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuron*, 8(1), 127–134. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(92\)90114-S](https://doi.org/10.1016/0896-6273(92)90114-S)

- Viswanathan, S., Frishman, L. J., & Robson, J. G. (2002). Inner-retinal contributions to the photopic sinusoidal flicker electroretinogram of macaques. *Documenta Ophthalmologica*, 105(2), 223–242. <https://doi.org/10.1023/A:1020505104334>
- Vleugels, L., van Nuenen, A., Lafosse, C., Ketelaer, P., & Vandenbussche, E. (1998). Temporal and spatial resolution in foveal vision of multiple sclerosis patients. *Vision Research*, 38(19), 2987–2997. [https://doi.org/10.1016/S0042-6989\(98\)00010-8](https://doi.org/10.1016/S0042-6989(98)00010-8)
- von Lintig, J., Kiser, P. D., Golczak, M., & Palczewski, K. (2010). The biochemical and structural basis for trans-to-cis isomerization of retinoids in the chemistry of vision. *Trends in Biochemical Sciences*, 35(7), 400–410. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2010.01.005>
- Wang, D., Huang, Y., Huang, C., Wu, P., Lin, J., Zheng, Y., Peng, Y., Liang, Y., Chen, J.-H., & Zhang, M. (2012). Association analysis of cigarette smoking with onset of primary open-angle glaucoma and glaucoma-related biometric parameters. *BMC Ophthalmology*, 12, 59. <https://doi.org/10.1186/1471-2415-12-59>
- Watson, A. B. & Robson, J. G. (1981). Discrimination at threshold: Labelled detectors in human vision. *Vision Research*, 21(7), 1115–1122. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(81\)90014-6](https://doi.org/10.1016/0042-6989(81)90014-6)
- Webster, M. A. (2018). Color Vision. In *Stevens' Handbook of Experimental Psychology and Cognitive Neuroscience* (pp. 1–42). American Cancer Society. <https://doi.org/10.1002/9781119170174.epcn208>
- Webster, M. A. & Leonard, D. (2008). Adaptation and perceptual norms in color vision. *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, Image Science, and Vision*, 25(11), 2817–2825.
- Westheimer, G. (1979). The spatial sense of the eye. Proctor lecture. *Investigative Ophthalmology e Visual Science*, 18(9), 893–912.
- Weyand, T. G. (2016). The multifunctional lateral geniculate nucleus. *Reviews in the Neurosciences*, 27(2), 135–157. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2015-0018>
- WHO, W. H. (2015). *WHO report on the global tobacco epidemic, 2015: Raising taxes on tobacco*. <http://escholarship.org/uc/item/1fh1f32m>
- Woodman, G. F. (2010). A brief introduction to the use of event-related potentials in studies of perception and attention. *Attention, Perception, e Psychophysics*, 72(8), 2031–2046. <https://doi.org/10.3758/BF03196680>
- Yan, Y., Peng, C., Arvin, M. C., Jin, X.-T., Kim, V. J., Ramsey, M. D., Wang, Y., Banala, S., Wokosin, D. L., McIntosh, J. M., Lavis, L. D., & Drenan, R. M. (2018). Nicotinic Cholinergic Receptors in VTA Glutamate Neurons Modulate Excitatory Transmission. *Cell Reports*, 23(8), 2236–2244. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.04.062>

- Yoonessi, A. & Yoonessi, A. (2011). Functional Assessment of Magno, Parvo and Konio-Cellular Pathways; Current State and Future Clinical Applications. *Journal of Ophthalmic e Vision Research*, 6(2), 119–126.
- York, Y. C. & Loop, M. S. (2008). Red light increment threshold as a measure of deficient color vision. *Optometry and Vision Science: Official Publication of the American Academy of Optometry*, 85(2), 106–111.
<https://doi.org/10.1097/OPX.0b013e3181622648>
- Young, T. (1802). II. The Bakerian Lecture. On the theory of light and colours. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 92, 12–48.
<https://doi.org/10.1098/rstl.1802.0004>
- Zaninetti, M., Tribollet, E., Bertrand, D., & Raggenbass, M. (2002). Nicotinic cholinergic activation of magnocellular neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Neuroscience*, 110(2), 287–299. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(01\)00536-x](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(01)00536-x)
- Zeitlin, R., Patel, S., Solomon, R., Tran, J., Weeber, E. J., & Echeverria, V. (2012). Cotinine enhances the extinction of contextual fear memory and reduces anxiety after fear conditioning. *Behavioural Brain Research*, 228(2), 284–293.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.11.023>
- Zenisek, D. & Matthews, G. (1998). Calcium action potentials in retinal bipolar neurons. *Visual Neuroscience*, 15(1), 69–75.
- Zoli, M., Pucci, S., Vilella, A., & Gotti, C. (2018). Neuronal and Extraneuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Current Neuropharmacology*, 16(4), 338–349.
<https://doi.org/10.2174/1570159X15666170912110450>

ANEXOS

Anexo 1. Certidão do Comitê de Ética em Pesquisa

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Possíveis efeitos do tabagismo no processamento visual e cognição em adultos

Pesquisador: Thiago Monteiro de Paiva Fernandes

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 60944816.3.0000.5188

Instituição Proponente: Laboratório de Percepção Neurociências e Comportamento

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.826.635

Apresentação do Projeto:

Esta é a 2ª versão do projeto "Possíveis efeitos do tabagismo no processamento visual e cognição em adultos" do pesquisador Thiago Monteiro de Paiva Fernandes. Trata-se de uma pesquisa do Laboratório de Percepção, Neurociências e Comportamento / Departamento de Psicologia / sob a orientação do Prof. Dr. Natanael

Antonio dos Santos.

MÉTODO

PARTICIPANTES: 45

45 voluntários na faixa etária de 21-45 anos, de ambos os sexos, com acuidade visual normal ou corrigida, verificada com a cartela de optotipos 'E' de Raskin.

Os participantes serão divididos de acordo com os grupos:

15 não fumantes (GC),

15 fumantes (GF) e

15 ex-fumantes (GNF).

Os participantes serão recrutados a partir de cartazes dispostos em ambientes aleatórios na

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: eticaccs@ccs.ufpb.br

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 1.826.635

Folha de Rosto	Doc1.pdf	21:43:56	Paiva Fernandes	Aceito
----------------	----------	----------	-----------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 20 de Novembro de 2016

Assinado por:

Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador)

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: eticaccs@ccs.ufpb.br

Anexo 2. Mini Exame do Estado Mental (MEEM)

MINI EXAME DO ESTADO MENTAL

Orientação Temporal Espacial – questão 2.a até 2.j pontuando 1 para cada resposta correta, máximo de 10 pontos.

Registros – questão 3.1 até 3.d pontuação máxima de 3 pontos.

Atenção e cálculo – questão 4.1 até 4.f pontuação máxima 5 pontos.

Lembrança ou memória de evocação – 5.a até 5.d pontuação máxima 3 pontos.

Linguagem – questão 5 até questão 10, pontuação máxima 9 pontos.

Identificação do cliente

Nome: _____

Data de nascimento/idade: _____

Sexo: _____

Escolaridade: Analfabeto () 0 à 3 anos () 4 à 8 anos () mais de 8 anos ()

Avaliação em: ____/____/____ Avaliador: _____.

Pontuações máximas	Pontuações máximas
Orientação Temporal Espacial 1. Qual é o (a) Dia da semana?____ 1 Dia do mês?____ 1 Mês?____ 1 Ano?____ 1 Hora aproximada?____ 1 2. Onde estamos? Local?____ 1 Instituição (casa, rua)?____ 1 Bairro?____ 1 Cidade?____ 1 Estado?____ 1	Linguagem 5. Aponte para um lápis e um relógio. Faça o paciente dizer o nome desses objetos conforme você os aponta ____ 2 6. Faça o paciente. Repetir “nem aqui, nem ali, nem lá”. ____ 1 7. Faça o paciente seguir o comando de 3 estágios. “Pegue o papel com a mão direita. Dobre o papel ao meio. Coloque o papel na mesa”. ____ 3 8. Faça o paciente ler e obedecer ao seguinte: FECHE OS OLHOS. ____ 1 9. Faça o paciente escrever uma frase de sua própria autoria. (A frase deve conter um sujeito e um objeto e fazer sentido). (Ignore erros de ortografia ao marcar o ponto) ____ 1 10. Copie o desenho abaixo. Estabeleça um ponto se todos os lados e ângulos forem preservados e se os lados da interseção formarem um quadrilátero. ____ 1
Registros 1. Mencione 3 palavras levando 1 segundo para cada uma. Peça ao paciente para repetir as 3 palavras que você mencionou. Estabeleça um ponto para cada resposta correta. -Vaso, carro, tijolo ____ 3	
3. Atenção e cálculo Sete seriado (100-7=93-7=86-7=79-7=72-7=65). Estabeleça um ponto para cada resposta correta. Interrompa a cada cinco respostas. Ou soletrar a palavra MUNDO de trás para frente. ____ 5	
4. Lembranças (memória de evocação) Pergunte o nome das 3 palavras aprendidas na questão 2. Estabeleça um ponto para cada resposta correta. ____ 3	