

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE**

**Henriqueta Vieira van Keulen**

**Avaliação da concentração sérica do óxido nítrico e marcadores inflamatórios de  
tabagistas em tratamento para abstinência**

**Juiz de Fora  
2015**

**Henriqueta Vieira van Keulen**

**Avaliação da concentração sérica do óxido nítrico e marcadores inflamatórios de  
tabagistas em tratamento para abstinência**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Saúde. Área de concentração: Imunologia.

Orientadora: Dra. Ana Paula Ferreira

Co-orientadora: Dra. Aline Silva de Aguiar Nemer

**Juiz de Fora**

**2015**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

van Keulen, Henriqueta Vieira.

Avaliação da concentração sérica do óxido nítrico e marcadores inflamatórios de tabagistas em tratamento para abstinência /

Henriqueta Vieira van Keulen. -- 2015.

117 f.

Orientadora: Ana Paula Ferreira

Coorientadora: Aline Silva de Aguiar Nemer

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2015.

1. Óxido Nítrico. 2. Tabagismo. 3. Citocinas. 4. Cessação Tabágica. I. Ferreira, Ana Paula, orient. II. Aguiar Nemer, Aline Silva de, coorient. III. Título.

**Henriqueta Viera van Keulen**

**Avaliação da concentração sérica do óxido nítrico e marcadores inflamatórios de  
tabagistas em tratamento para abstinência**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Saúde. Área de concentração: Imunologia.

Aprovada em 20 de março de 2015.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Ana Paula Ferreira - Orientador  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Dra. Aline Silva de Aguiar Nemer  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Dra. Vilma Aparecida da Silva Fonseca  
Universidade Federal Fluminense

---

Dra. Sheila Cristina Potente Dutra Luquetti  
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedico este trabalho

a meu marido Guilherme,  
meu eterno companheiro, meu querido, meu amor...

às minhas filhas Carol e Bia,  
duas estrelas que iluminam meu caminho...

à minha mãe Marlene,  
por me ensinar a ser guerreira.

Vocês são a razão da minha vida!!!!

## AGRADECIMENTOS

- ❖ Ao meu amor Gui, meu porto seguro... obrigada pela sua dedicação, seu carinho, seu cuidado, por dividir com muita paciência seus conhecimentos científicos e principalmente pelos ensinamentos de vida!
- ❖ Às queridas filhas Carol e Bia, pela compreensão das horas dedicadas a esta pesquisa.
- ❖ À minha mãe, por me apoiar sempre e torcer pelas minhas conquistas.
- ❖ À minha família de origem, pela sua existência e ensinamentos de vida.
- ❖ A Deus, por me dar forças para seguir em frente.
- ❖ À Profa. Dra. Ana Paula Ferreira, por ter sempre uma palavra amiga, por me ensinar a vencer as dificuldades, por me apoiar na tomada de decisões, por sua dedicação a ciência, enfim... por me dar a oportunidade de chegar até aqui!!
- ❖ À Profa. Dra. Aline Silva de Aguiar Nemer que com muito carinho acreditou em mim e me ensinou a vencer os desafios da ciência. Cuidou para que esse longo caminho terminasse com uma grande conquista e que eu acreditasse sempre, que valeria a pena. Obrigada pela sua amizade e por me receber todos os dias com seu eterno bom humor e um sincero sorriso estampado no rosto!!
- ❖ Ao amigo mestrando Arthur da Silva Gomes, pelo seu companheirismo, por estar sempre pronto para ajudar, por me ensinar a simplificar as dificuldades da ciência e pela sua sincera amizade.
- ❖ À amiga doutoranda Mayla Cardoso Fernandes Toffolo, pelo seu carinho, suas palavras amigas, por dividir as decisões e me apoiar no desenvolvimento desta pesquisa.
- ❖ Aos mestrandos Erick E. de Oliveira e Luan Cristian da Silva, a pós doutoranda Caroline de Souza Almeida e o Prof. Dr. Caio Cesar de Souza Alves do Laboratório de Terapia Celular e Imunologia Aplicada (IMUNOCET), por dividirem seus conhecimentos científicos e pela grande ajuda e apoio no desenvolvimento desta pesquisa.
- ❖ A todos os integrantes do IMUNOCET por me receberem de braços abertos e estarem sempre prontos para ajudar no desenvolvimento da pesquisa científica.
- ❖ À Prof. Dra. Sheila Potente Dutra Luquetti, pela ajuda e apoio para a realização e conclusão deste projeto.
- ❖ À Profa. Dra. Larissa Loures Mendes, pelo carinho e pela ajuda na conclusão desta pesquisa.

- ❖ Aos professores do Departamento de Nutrição/ICB/UFJF, em especial aqueles que fizeram parte da minha formação e serão eternamente meus mestres...enfim, todos vocês sempre me receberam com muito carinho e me fizeram sentir acolhida todo o tempo.
- ❖ À equipe multidisciplinar do CIPIT - HU/UFJF, em especial a Ana Lucia Vargas pela grande ajuda e apoio para a realização desta pesquisa.
- ❖ À Residência Multiprofissional em Saúde do Adulto do HU/UFJF e a Carmem Perches, farmacêutica do Laboratório de Análises Clínicas do HU/UFJF, pela ajuda na coleta de dados e análises laboratoriais.
- ❖ Às alunas Fernanda Soares, Laíta Babio, Tatiana Thees e Marília Câmara, pelo seu compromisso e dedicação e auxílio da coleta de dados. Obrigada!
- ❖ À minha eterna patroa e amiga Maria Elisa Carvalho, por me dar assistência profissional em todos os momentos. Obrigada por acreditar em mim, dividir anseios, angústias e realizações, por me ensinar que a vida é uma eterna luta e que, “depois da tempestade sempre devemos esperar, que algo de bom virá!”
- ❖ À Dra. Christiane Meurer e Dra. Andrea Nicolato, pela confiança do meu profissionalismo me entregando seus pacientes e por me darem de presente fazer parte da equipe da CENTERQ.
- ❖ Aos meus alunos de personal trainer, pacientes e clientes de nutrição, que acompanharam toda a minha trajetória e continuaram a acreditar em mim, mesmo com toda a correria e cansaço do dia a dia.
- ❖ A meus amigos Mirinha, Helinho, Fefe e Carolzinha, pelo carinho, pela amizade, por proporcionarem e participarem de momentos especiais e deixarem a “vida bem mais leve”!
- ❖ Ao CNPq, a FAPEMIG e a UFJF pela concessão do financiamento do projeto.
- ❖ Ao ensino público de qualidade, que me permitiu a concretização de mais este sonho.
- ❖ Aos professores do Programa de Pós-graduação em Saúde da UFJF, pela valiosa contribuição na continuidade da minha formação.
- ❖ A todos que contribuíram para que esse trabalho se tornasse possível.
- ❖ À banca examinadora, pela disponibilidade de estar presente na defesa desta pesquisa e que com toda certeza, irá acrescentar para o engrandecimento da pesquisa científica.

*“O que antes parecia impossível torna-se possível quando alguém se sente apto a transpor todos os obstáculos, conhecendo a sua verdadeira grandeza interior.”*

*Nuno Cobra*



## RESUMO

A presente dissertação foi apresentada em dois artigos que contemplaram os seguintes objetivos: (i) avaliar a concentração sérica do metabólito de óxido nítrico (NO) em mulheres tabagistas e não tabagistas com excesso de peso e correlacionar o NO com variáveis antropométricas e com o número de cigarros/dia (artigo 1), e (ii) comparar a concentração sérica de NO em tabagistas no início e após 4 meses de tratamento para abstinência tabágica e correlacionar o NO com os marcadores inflamatórios (artigo 2). Foi realizado um estudo de intervenção, que avaliou os participantes do Centro Interdisciplinar de Pesquisa e Intervenção em Tabagismo do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (CIPIT-HU/UFJF) no início do tratamento para abstinência e aqueles que se mantiveram até o término da pesquisa após 4 meses, tanto homens quanto mulheres. Dos 159 indivíduos que iniciaram o tratamento, 86 foram incluídos no estudo. **Artigo 1:** Para a realização da 1ª fase da pesquisa, foram avaliados os exames bioquímicos, dados antropométricos e número de cigarros/dia de 20 mulheres tabagistas com sobrepeso, entre 20 e 72 anos que utilizaram o tratamento de reposição de nicotina (TRN) e foram convidadas 18 mulheres também com sobrepeso, não tabagistas, pareadas por idade, de outro projeto denominado Saúde na Balança que funcionava no mesmo local. Foram avaliados os exames bioquímicos e dados antropométricos dessas mulheres para serem comparadas às mulheres tabagistas. Os resultados apresentaram diminuição dos níveis séricos de NO em todas as participantes da pesquisa indicando que ambos os grupos podem estar sofrendo diminuição de biodisponibilidade de NO, o que pode estar relacionado com o aumento de fatores de risco para doenças relacionadas com o tabagismo e com o sobrepeso. Portanto, parece que a associação do tabagismo com o sobrepeso interfere nos níveis finais de nitrito. **Artigo 2:** Para a continuidade da pesquisa foram analisados os níveis séricos de NO, citocinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e TNF- $\alpha$ ) e índice HOMA-IR no início e ao final do tratamento daqueles indivíduos que se mantiveram após 4 meses de tratamento (30 sujeitos, do sexo feminino e masculino – 25 abstinentes e 5 ainda fumantes). Foi observada uma redução significativa ( $p=0,001$ ) do valor mediano de NO inicial de 18,80 (3,55 – 80,01)  $\mu\text{mol/L}$  para o NO final 8,10 (2,85 – 14,97)  $\mu\text{mol/L}$  após 4 meses de tratamento. Na comparação entre os dados do NO no início e no final do tratamento, os participantes que não conseguiram se manter abstinentes ( $9,18 \pm 3,85 \mu\text{mol/L}$ ) e os abstinentes ( $7,58 \pm 3,03 \mu\text{mol/L}$ ) não apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p=0,304$ ). Ainda considerando o status tabágico após 4 meses de tratamento (abstinente x fumante), não foram encontradas diferenças estatísticas dos valores das citocinas analisadas, mas acredita-se que essa resposta faça parte de um processo adaptativo do organismo pela redução do uso da nicotina. Dos 86 sujeitos que iniciaram o tratamento e foram incluídos nesta pesquisa, somente 25 indivíduos conseguiram se manter abstinentes, mas os 5 sujeitos que não conseguiram se abster, diminuíram o consumo de cigarros/dia. O IMC que no início já era, em média, indicativo de sobrepeso ( $27,84 \pm 5,58\text{Kg/m}^2$ ), teve um acréscimo no seu valor final ( $28,63 \pm 5,70\text{Kg/m}^2$ ), apresentando um aumento estatisticamente significativo ( $p=0,018$ ), potencializando o risco de sobrepeso e obesidade. Além disso, o tempo determinado para o tratamento pode ter sido insuficiente para se perceber uma melhora no estado geral dos participantes e, ainda, a utilização da TRN durante todo o tratamento pode ter sido determinante para os resultados encontrados.

**Palavras-chave:** Óxido Nítrico. Tabagismo. Citocinas. Cessação Tabágica.

## ABSTRACT

This work was presented in two articles which contemplated the following objectives: (i) to evaluate the serum concentration of nitric oxide metabolites (NO) in smokers and nonsmokers overweight women and correlate with anthropometric variables NO and the number of cigarettes / day (Article 1), and (ii) to compare the serum concentration of NO in smokers at baseline and after 4 months of treatment for smoking cessation and correlate NO with inflammatory markers (Article 2). We conducted an intervention study which evaluated the participants of the Interdisciplinary Center for Research and Intervention in University Hospital Tobacco, Federal University of Juiz de Fora (CIPIT-HU/UFJF) at the beginning of treatment for abstinence and those who remained until the end of the study after four months, both men and women. Of the 159 individuals who began treatment, 86 were included in the study. **Article 1:** To carry out the first phase of the study, we evaluated the biochemical, anthropometric data and number of cigarettes/day of 20 women smokers overweight, ranging from 20 to 72 who used the treatment of nicotine replacement therapy (NRT) and 18 also overweight women, nonsmokers and matched by age, were invited to another project called Health in the Balance that worked in the same place. We evaluated the biochemical and anthropometric data of these women to be compared to female smokers. The results showed decreased serum levels of NO in all study participants indicating that both groups may be experiencing decreased bioavailability of NO, which may be associated with increased risk factors for diseases related to smoking and the overweight. Therefore, it seems that the association of smoking with overweight interferes in the final levels of nitrite. **Article 2:** To continue the research we analyzed the serum levels of NO, cytokines (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and TNF- $\alpha$ ) and HOMA-IR index at the beginning and the end of the treatment of those individuals who remained after 4 months of treatment (30 subjects, female and male - 25 abstinent and 5 still smoking). A significant reduction was observed ( $p = 0.001$ ) of the initial NO median value of 18.80 (3.55 to 80.01)  $\mu\text{mol/L}$  for NO end 8.10 (2.85 to 14.97)  $\mu\text{mol/L}$  after 4 months of treatment. Comparing the data of NO at the beginning and end of treatment, participants who failed to keep abstinent ( $9.18 \pm 3.85 \mu\text{mol/L}$ ) and abstinent ( $7.58 \pm 3.03 \mu\text{mol/L}$ ) do not show statistical significant difference ( $p = 0.304$ ). Still considering the smoking status after 4 months of treatment (abstinent x smokers), there were no statistical differences of the values of the analyzed cytokines, but it is believed that this response is part of an adaptive process in the body by reducing the use of nicotine. Of the 86 patients who started treatment and were included in this survey, only 25 individuals managed to remain abstinent but the 5 subjects who could not refrain decreased consumption of cigarettes/ day. BMI which earlier was already on average overweight sign ( $27.84 \pm 5,58\text{Kg/m}^2$ ), had an increase in its final value ( $28.63 \pm 5,70\text{Kg/m}^2$ ), with a statistically significant increase ( $p = 0.018$ ), enhancing the risk of overweight and obesity. In addition, the time allotted for the treatment may have been insufficient to realize an improvement in the general condition of the participants and also the use of NRT during the treatment may have been decisive for the results.

**Keywords:** Nitric Oxide. Smoking. Cytokines. Smoking Cessation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Características da dependência de nicotina segundo a CID-10.....	25
Figura 1	Fatores hipotéticos ligando tabagismo e peso corporal.....	31
Figura 2	Representação dos prejuízos do tabagismo.....	32
Figura 3	Estrutura da formação do óxido nítrico (NO).....	36
Figura 4	Representação esquemática das vias de sinalização induzidas pelo tabagismo na parede dos vasos .....	41
Figura 5	Esquema de seleção dos participantes da pesquisa.....	46
Gráfico1 do Artigo 2	Comparação das médias dos marcadores inflamatórios no início e após 4 meses de intervenção com todos os participantes.....	74
Gráfico 2 do Artigo 2	Comparação das médias dos marcadores inflamatórios no início e após 4 meses de intervenção com a exclusão dos indivíduos que não conseguiram se manter abstinentes.....	75

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição da frequência da idade categorizada.....	50
Tabela 2	Frequência do IMC categorizado.....	50
Tabela 3	Dados categorizados de CC para homens e mulheres.....	51
Tabela 4	Categorização do número de cigarros/dia fumados.....	51
Tabela 5	Apresentação dos valores de NO para todo o grupo e para as mulheres e homens.....	52
Tabela 6	Categorização de Fagerstrom por sexo e para o total de sujeitos.....	53
Tabela 1	Dados descritivos da idade, CC, NO, IMC e quantidade de cigarros/dia do do total de sujeitos e dos grupos GT e GNT.....	59
Artigo 1		
Tabela 2	Comparação entre as médias de idade e CC e entre as medianas de do NO e IMC entre os grupos GT e GNT.....	60
Artigo 1		
Tabela 3	Correlação entre idade, IMC, CC, cigarros/dia e NO entre os grupos do GT e GNT.....	60
Artigo 1		
Tabela 1	Dados descritivos e comparativos do NO e dos demais marcadores do inflamatórios no início e após 4 meses de intervenção para a cessação Artigo 2 tabágica.....	73
Tabela 2	Comparação dos valores de NO final entre os participantes que não do conseguiram se manter abstinentes e os abstinentes.....	74
Artigo 2		
Tabela 3	Dados correlacionais entre o NO e os demais marcadores inflamatórios do no início e após 4 meses de intervenção.....	75
Artigo 2		

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS	Organização Mundial da Saúde.....	16
CID-10	Décima Revisão da Classificação Internacional de Doenças.....	16
PNCT	Programa Nacional de Controle do Tabagismo.....	16
NO	Óxido Nítrico.....	17
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral.....	18
TRN	Terapia de Reposição da Nicotina.....	19
BAT	British American Tobacco.....	20
INCA	Instituto Nacional do Câncer.....	23
PNCC	Política Nacional de Controle do Câncer.....	23
FTND	Fagerstrom Test for Nicotine Dependence.....	26
COex	Monóxido de Carbono no Ar Exalado.....	26
nAchRs	Receptores Colinérgicos Nicotínicos.....	26
SNC	Sistema Nervoso Central.....	26
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico.....	27
TCC	Terapia Cognitiva Comportamental.....	27
DCV	Doenças Cardiovasculares.....	29
IMC	Índice de Massa Corpórea.....	30
SM	Síndrome Metabólica.....	31
CC	Circunferência da Cintura.....	31
MAC	Moléculas da Adesão Celular.....	34
EDRF	Endothelium-Derived Relaxing Factor.....	35
NADPH	Nicotinamida- Adenina Denucleotídeo-Fosfato-Hidrogênio.....	35
Ca <sup>2+</sup>	Íon Cálcio.....	35
cNOS	Óxido Nítrico Sintase Constitutiva.....	36
nNOS	Óxido Nítrico Sintase Neuronal.....	36
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial.....	36
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Constitutiva.....	36
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica.....	38
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio.....	38
DNA	Ácido Desoxirribonucleico.....	38
IL	Interleucina.....	39
IFN $\gamma$	Interferon-Gamma.....	39
Kit CBA	CBA Human Inflammatory Cytokines Kit.....	40
Th 2	Linfócitos T Auxiliares-Tipo 2.....	41
CIPIT-	Centro Interdisciplinar de Pesquisa e Intervenção em Tabagismo do	
HU/UFJF	Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora.....	45
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	45
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.....	45
OB1	Obesidade Grau 1.....	48
OB2	Obesidade Grau 2.....	48
OB 3	Obesidade Grau 3.....	48
GT	Grupo de Mulheres Tabagistas.....	54
GNT	Grupo de Mulheres Não Tabagistas.....	54
IMUNOCET	Centro de Tecnologia Celular e Imunologia Aplicada.....	54

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
<b>2.1</b>	<b>Histórico do tabagismo.....</b>	<b>20</b>
<b>2.2</b>	<b>Aspectos sociais, emocionais e motivacionais para o uso do cigarro.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3</b>	<b>Programa nacional de controle do tabagismo (PNCT).....</b>	<b>23</b>
<b>2.4</b>	<b>Dependência à nicotina.....</b>	<b>25</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Síndrome de abstinência tabágica.....</b>	<b>26</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Tipos de tratamentos e recaída.....</b>	<b>27</b>
<b>2.5</b>	<b>Influências da cessação do tabagismo.....</b>	<b>29</b>
<b>2.6</b>	<b>Obesidade e tabagismo.....</b>	<b>33</b>
<b>2.7</b>	<b>Óxido nítrico.....</b>	<b>34</b>
<b>2.7.1</b>	<b>Estresse oxidativo.....</b>	<b>38</b>
<b>2.8</b>	<b>Citocinas, interleucinas e resposta inflamatória.....</b>	<b>39</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>HIPÓTESES.....</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>43</b>
<b>6</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>45</b>
<b>7.1</b>	<b>Participantes do estudo.....</b>	<b>46</b>
<b>7.2</b>	<b>Procedimentos de coleta dos dados.....</b>	<b>47</b>
<b>7.3</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>49</b>
<b>7.4</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>49</b>
<b>7.5</b>	<b>Considerações finais do perfil dos tabagistas.....</b>	<b>53</b>
<b>8</b>	<b>ARTIGO 1.....</b>	<b>54</b>
<b>9</b>	<b>ARTIGO 2.....</b>	<b>67</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>82</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>83</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>91</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>103</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O tabagismo é resultante da dependência de nicotina e classificado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) no grupo dos transtornos mentais e de comportamento decorrentes do uso de substâncias psicoativas na Décima Revisão da Classificação Internacional de Doenças (CID-10). A OMS estima que um terço da população mundial adulta, ou seja, um bilhão e duzentos milhões de pessoas, seja fumante (MANZANO, 2010). Cerca de 5 milhões de mortes ao ano são computadas e, se tais tendências de expansão forem mantidas, podem chegar a 10 milhões/ano em 2030.

No Brasil, são estimadas cerca de 200 mil mortes/ano em consequência dessa dependência (WHO, 2002), na qual a prevalência de fumantes é de 17,2%, sendo que 21,6% entre homens e 13,1% em mulheres. O país encontra-se em estágio intermediário, apresentando maior declínio de prevalência em homens do que mulheres (BARROS *et al.*, 2011).

O uso contínuo do tabaco parece ser uma das principais causas de morte e desenvolvimento de doenças cardiovasculares, câncer e doenças respiratórias obstrutivas crônicas (ROBBINS, 2006). O combate ao fumo e seus malefícios ganhou força somente nos últimos vinte anos, sendo que além da abordagem preventiva, novas técnicas terapêuticas e farmacoterápicas efetivas foram desenvolvidas, tornando o tratamento dessa dependência bastante promissor (ROSEMBERG, 2002).

O Brasil, apesar de ser um país em desenvolvimento e de ser um grande produtor de tabaco, tem investido esforços no combate ao consumo do mesmo. Com o objetivo de reduzir a prevalência e a morbimortalidade de fumantes, o governo brasileiro, através do Programa Nacional de Controle do Tabagismo (PNCT), tem utilizado, como estratégias, a prevenção da iniciação ao tabagismo, a proteção da população contra a exposição ambiental à fumaça de tabaco, a promoção e apoio à cessação de fumar e a regulação dos produtos de tabaco através de ações educativas e de mobilização de políticas e iniciativas legislativas e econômicas (INCA, 2001).

Vários programas de tratamento do tabagismo têm sido desenvolvidos (INCA, 2001), sendo que na maioria deles as maiores dificuldades para conseguir atingir a abstinência estão associadas à dependência da nicotina e aos danos causados pelas várias substâncias componentes do cigarro. Assim, das 4720 substâncias que compõem o cigarro, duas se destacam pelos efeitos danosos: a nicotina e o monóxido de carbono.

Sabe-se que a exposição crônica à nicotina induz à disfunção endotelial vascular, a qual acarreta redução da síntese de óxido nítrico (NO), desencadeia a cascata de vasoconstrição,

estimula a adesão de leucócitos no endotélio e a aterosclerose (BALAKUMAR, 2009). Entre esses vários efeitos da nicotina, destaca-se a redução do NO que está envolvido no relaxamento vascular, na proteção dos vasos sanguíneos, modulando diversos processos biológicos essenciais. O seu efeito se faz presente particularmente em situações de estresse oxidativo, geração de intermediários do oxigênio e deficiência do sistema antioxidante (KESER *et al.*, 2013; STEFFEN *et al.*, 2012).

O NO é um marcador altamente reprodutível de inflamação nas vias respiratórias e a abstinência dos fumantes pode alterar esse quadro diminuindo os riscos (LIU *et al.*, 2012). Nitritos e nitratos são os produtos finais estáveis da reação de NO com o oxigênio molecular. A dosagem do NO é complexa, portanto, sua determinação indireta através da quantificação do nitrito é amplamente utilizada na caracterização de perfis inflamatórios (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

Os marcadores de inflamação podem indicar diretamente as respostas inflamatórias provocadas e associadas ao tabagismo, modulando seus prejuízos à saúde, uma vez que vários deles são, por si só, fatores de risco forte e independente para o aumento da produção de radicais livres, doenças coronarianas, doenças respiratórias comuns e crônicas, entre outras (FRÖHLICH *et al.*, 2003).

É fato que fumar tem um sério impacto nas funções imunológicas, e as mudanças induzidas pelo fumo afetam a capacidade geral dos indivíduos que necessitam ser tratados (ROBBINS, 2006). A fumaça do cigarro, além de afetar a resposta imune das células humorais, eleva a contagem de leucócitos no sangue, aumenta a circulação do número de linfócitos e leva a um perfil anormal de células-T com respostas antitumorais reduzidas nos fumantes (JUBRI, 2013).

As citocinas são agentes secretados por tipos de células imunológicas que estimulam um outro tipo de célula com atividades diversificadas. São proteínas solúveis que servem de mediadoras nas reações imunológicas e inflamatórias, sendo responsáveis pela comunicação entre leucócitos e outras células. A maioria das citocinas que possuem estrutura molecular definida é chamada de interleucina, o que significa que essas moléculas são produzidas pelos leucócitos e atuam sobre eles (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013). As interleucinas são conhecidas também por linfocinas e suas principais atividades são: reconhecimento de antígenos estranhos por células T, amplificação da proliferação de células T ativadas, atração de macrófagos e identificação de mecanismos efetivos para fagocitose de microrganismos e promoção da eritropoiese. Assim, são constituídas por um grupo de proteínas diferentes, com



origens diversas, na sua maioria em células T e com atuação em células-alvo e efeitos específicos sobre cada alvo (NAOUM, 2009).

A inflamação crônica é mediada pelo sistema imune inato por meio da atividade de citocinas e polipeptídeos produzidas na maioria das vezes por macrófagos e monócitos, atuando na sinalização intracelular (PASCHOAL; NAVES; FONSECA, 2014). Neste estudo, serão destacadas as citocinas interleucina-8 (IL-8), interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), interleucina-12p70 (IL-12p70) e TNF-  $\alpha$  (fator de necrose tumoral), por terem importante atuação na patogênese das doenças crônicas.

No endotélio, as citocinas são importantes estimuladoras das moléculas de adesão plaquetária e diminuem a produção de NO, atuando na aterosclerose. Nos adipócitos hipertrofiados, a infiltração dos macrófagos ativados gera desequilíbrio na atividade das adipocitocinas secretadas por essas células com o aumento da produção da leptina, diminuição da produção da adiponectina, aumento do cortisol, além da resistência à insulina (PASCHOAL; NAVES; FONSECA, 2014).

Todas as alterações imunológicas causadas pelo tabagismo geram uma série de mudanças orgânicas, como diminuição do olfato e do paladar, variação no peso corporal, modificação no metabolismo lipídico com maior aporte de lipídeos e menor oxidação de gordura, entre outras (CHATKIN; CHATKIN, 2007). Os fumantes, em geral, pesam menos do que os não-fumantes e ganham peso quando param de fumar.

A cessação do tabagismo está relacionada com o aumento de peso corporal, tanto em homens como em mulheres, e mais de 75% dos fumantes ganham peso ao tornarem-se abstinentes. Isso ocorre porque a cessação tabágica pode desequilibrar os neuromoduladores do apetite durante esse processo, interferindo nos seus benefícios, no ganho de peso e na manutenção da abstinência. O aumento de peso pode ser um fator de risco para o sucesso do abandono do tabagismo, principalmente em mulheres (CHATKIN; CHATKIN, 2007; INOUE *et al.*, 2011).

A obesidade e o tabagismo juntos representam fatores de risco modificáveis para muitas doenças, por isso, ambas as variáveis são consideradas um forte elo com o estresse oxidativo elevado (VASSALLE *et al.*, 2009). Essa situação resulta em um desequilíbrio oxidante/antioxidante que leva a uma excessiva produção de oxidações e/ou uma depleção de elementos antioxidantes das proteínas, lípidos e carboidratos (NUNES *et al.*, 2013).

As mudanças de estilo de vida, tal como a eliminação dos efeitos do cigarro ou controle da obesidade como prevenção e diminuição de comorbidades, seriam potencialmente

interessantes para a aquisição e manutenção de uma boa qualidade de vida (VASSALLE *et al.*, 2009).

O uso da terapia de reposição da nicotina (TRN) pode levar a uma redução do esperado ganho de peso após a cessação. A interrupção dessa droga pode levar a um processo de ganho ponderal e ao retorno a níveis semelhantes aos anteriores do tabagismo (LEMOS; GONÇALVES; BOTELHO, 2000).

Portanto, há necessidade de entender o perfil bioquímico e avaliar os marcadores inflamatórios em tabagistas em tratamento a fim de investigar os fatores envolvidos na manutenção da abstinência tabágica.

A presente dissertação inicia-se com a revisão da literatura, abordando a história do tabagismo, as políticas públicas relacionadas ao controle do tabagismo, dados epidemiológicos relacionados à problemática do uso do tabaco, à dependência tabágica, aos mecanismos fisiológicos do metabolismo da nicotina e suas relações com processos inflamatórios e com o tratamento para abstinência. Em seguida, será descrito o local de realização do estudo, o perfil inicial dos tabagistas (medidas antropométricas, grau de dependência) e o NO, no início do tratamento para abstinência. Serão apresentados, ainda, dois artigos elaborados com demais dados coletados, a saber:

- Artigo 1: Concentração sérica do óxido nítrico em tabagistas e não tabagistas com excesso de peso.

Esse artigo descreve a concentração sérica do NO em mulheres tabagistas e mulheres não tabagistas com excesso de peso e correlaciona as variáveis antropométricas e o número de cigarros/dia com os níveis de NO.

- Artigo 2: Comparação da concentração sérica do óxido nítrico em tabagistas no início e após 4 meses de tratamento para cessação tabágica.

Esse artigo compara a concentração sérica de NO e marcadores inflamatórios em tabagistas no início e após 4 meses de tratamento para abstinência tabágica associando os resultados com o status tabágico ao final do tratamento.

Ao final, serão apresentadas as considerações finais sobre os resultados encontrados do perfil e da intervenção realizados nesse grupo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico do tabagismo

Originalmente, o tabaco era apenas encontrado na América, onde era usado pelos nativos americanos sob várias formas e com propósitos culturais diferentes. Em algumas sociedades indígenas, fazia parte de ritos religiosos como forma de exercer autoridade sobre a tribo. Nas sociedades modernas, o tabaco foi por muito tempo utilizado como estimulante, causando uma melhora no rendimento e no prazer pessoal e social. No início do século XVI, o tabaco foi levado pelos espanhóis para a Europa, onde se tornou muito popular para ser mascado sob a forma de rapé. Em 1561, Jean Nicot, de quem deriva o nome da nicotina, embaixador francês em Portugal, notou que com o uso contínuo do rapé, aliviava suas enxaquecas. Com isso, nesse mesmo ano, enviou sementes e pó do tabaco para França para que a rainha Catarina de Médicis o experimentasse no combate a suas enxaquecas. O sucesso desse tratamento popularizou ainda mais o seu uso (ACT, 2014).

O hábito de fumar o tabaco como forma de demonstração de *status* e ostentação se originou com a criação de formas cilíndricas que seriam o primeiro charuto, sendo levadas a diversos continentes e, somente em 1840, se tem relatos do uso do tabaco em forma de cigarro. Nesse momento, a finalidade terapêutica original do tabaco já havia perdido seu lugar nas sociedades civilizadas se transformando em hábito de fumar por prazer.

Embora o uso do cigarro tenha tomado enormes proporções a partir da Primeira Guerra Mundial, apenas em 1960 tiveram início publicações dos primeiros estudos científicos relacionando o cigarro ao aumento da incidência de câncer, infarto, doenças respiratórias entre outras associadas ao tabagista habitual.

No Brasil, a planta chamada *nicotiana tabacum* chegou através da migração dos índios tupis-guaranis que propiciaram o primeiro contato dos portugueses com a erva no desembarque ao país. O seu plantio e cultivo foi inicialmente realizado por imigrantes alemães no século XIX, em Santa Cruz do Sul, que com a implantação da empresa British American Tobacco (BAT) na região, em 1918, expandiram sua produção e se profissionalizaram (VOGT, 1997). A região passou por um processo de internacionalização da indústria fumageira a partir de 1966, quando as empresas nacionais foram, gradualmente, sendo substituídas por empresas multinacionais sendo o fumar cada vez mais associado a padrões de vida elevados, atingindo principalmente o público mais jovem (COSTA E SILVA; ROMERO, 1988; SCHWARTZ, 1992).

O tabaco, além de ser considerado uma erva com propriedades medicinais bem eficazes, era utilizado para tratamento de doenças, sob diferentes formas: fumo, cataplasma, infusões, entre outras (PAHO, 1992). Porém, com o avanço dos estudos de plantas medicinais, sua utilização foi gradualmente declinando até o completo desaparecimento, ao contrário do hábito prazeroso que foi difundido pelo mundo (BECHARA; SZEGO; RODRIGUES, 1985).

## **2.2 Aspectos sociais, emocionais e motivacionais para o uso do cigarro**

Ao longo de décadas, o comportamento de fumar foi tornando-se familiar e o cigarro, objeto de desejo de milhões de pessoas, especialmente a partir da década de 50, focando no desenvolvimento de novas técnicas de publicidade (INCA, 2001). Durante muitos anos, os meios de comunicação propagaram imagens associando o ato de fumar a charme, glamour e sucesso. Com o intuito de demonstrar uma vida saudável, o cigarro era aliado a propagandas esportivas de modalidades radicais de alto custo e, assim, a imagem vendida pelo marketing da indústria tabagista contribuiu consideravelmente para a disseminação do uso do cigarro, especialmente entre os adolescentes (REINALDO *et al.*, 2010).

Estudos vêm demonstrando que o primeiro contato com o fumo ocorre cada vez mais precocemente e que esse comportamento tem levado os jovens a entrarem no ciclo do vício, desencadeando a dependência química e aumentando, assim, a prevalência de tabagistas adolescentes (MALCON; MENEZES; CHATKIN, 2003). A contabilização desses dados mostra que mais de um bilhão de pessoas com 15 anos ou mais fumam diariamente e que os adolescentes constituem uma parcela da população que tem elevado risco de consolidação do hábito de fumar, devido a sua exposição mais precoce ao tabaco. Esse processo é influenciado pela fase em que o jovem inicia a formação da própria identidade e a interação social passa a ter relevância nos hábitos e comportamentos, expressando ações positivas ou negativas (BARRENECHEA *et al.*, 2007).

Hortense, Carmagnani e Brêtas (2008) descrevem que o contato com o cigarro e seu uso contínuo reúnem aspectos sociais, emocionais e motivacionais. Esses fatores são decorrentes desde a influência do grupo com o qual se convive, identificação do cigarro como um atrativo pessoal capaz de transformar as pessoas em adultos fortes e atraentes, aliviando tensões e auxiliando nos momentos de insegurança, até um simples desejo de experimentar o tabaco por curiosidade.

Os fatores motivacionais estão ligados intimamente a aspectos emocionais como uma forma de acalmar, aliviar tristezas, depressão, disfarçar a timidez, representar independência e

rebeldia e, ainda, mostra-se associado ao consumo de bebidas alcoólicas, cafeína, jogos e reuniões sociais. Além disso, os tabagistas relatam possíveis alterações nos aspectos fisiológicos, quando o cigarro passa a ser uma necessidade básica na vida, protegendo-o do frio, aliviando a sensação de fome, sono e medo (CONSUEGO; ZAGO, 2004).

Outro fator motivacional é a ênfase do uso do cigarro nos canais de comunicação. A relação entre tabagismo e comportamentos psicossociais é tão íntima que estudos consideram prioritários a relação de dose-resposta à exposição às imagens nos filmes. Quanto maior a exposição de jovens e adolescentes a imagens de consumo de tabaco nos filmes, maior a possibilidade de se tornarem fumantes, aumentando cerca de três vezes mais as chances de se tornarem adultos com o hábito de fumar consolidado (VARGAS; BARBOSA; TAVARES, 2014). Segundo esses autores, “estudos realizados nos Estados Unidos foram replicados em pesquisas desenvolvidas na Nova Zelândia, México, Alemanha e Índia, confirmando essas afirmações em realidades culturais distintas”.

Entretanto, sabemos que o tabagismo é um problema mundial prevalente e que associado a fatores individuais, influências familiares e do grupo social, caracteriza o perfil dos sujeitos que tiveram contato com a nicotina no início da adolescência e que firmaram o uso contínuo na idade adulta (ABREU; SOUZA; CAIAFFA, 2011). O fato é que a prevalência entre os homens é mais elevada do que nas mulheres, e nem mesmo a presença de doenças crônicas ou adquiridas pelo tabagismo, como as doenças respiratórias, doenças cardíacas ou Diabetes Mellitus, entre outras, diminui o percentual dos usuários ao atingirem a terceira idade.

De certa forma, o tabagismo em indivíduos idosos tem recebido pouca atenção, devido ao pressuposto de que a pessoa por estar em idade avançada merece um último prazer, que seria o de fumar. Com isso, o idoso fumante tem sido excluído dos programas de cessação tabágica, em função do direcionamento praticamente exclusivo com foco nas populações adolescente e adulta. A idade avançada, porém, não é fator limitante na aplicação dos procedimentos que inibem a utilização e supressão do tabaco e muitos benefícios podem ser obtidos com a abdicção do tabagismo em indivíduos idosos, como redução do risco de adoecer, melhor controle da evolução de doença pré-existente, melhor qualidade de vida e aumento na expectativa de vida (CARVALHO *et al.*, 2013).

Para reduzir a exposição dos não fumantes e/ou fumantes passivos à fumaça e reduzir o consumo de cigarros entre os fumantes, foram tomadas medidas bem recentes, como a restrição do fumo em locais fechados tanto públicos como privados. A proibição da propaganda foi o foco para reduzir as taxas do tabagismo, pois foi constatado que a propaganda tem papel importante no reforço para o uso do tabaco. Porém, vale destacar que as diretrizes atuais de

tratamento do tabagismo recomendam o uso de medicamentos antitabágicos somente para fumantes de mais de 10 cigarros/dia. Com isso, é bem comum e mais frequente nos depararmos com fumantes que consomem menos de 10 cigarros/dia, mas sem necessariamente indicar baixa dependência a nicotina (ISSA, 2012).

Hoje existem propagandas preventivas impactantes, promovidas pelo Ministério da Saúde (LEVY; ALMEIDA; SZKLO, 2012; GODOY, 2010) e veiculadas em embalagens de cigarro com o intuito de alertar os consumidores quanto aos malefícios à saúde causados pelo fumo. Mesmo assim, essas campanhas parecem não ser efetivas para a prevenção do consumo do mesmo, tendo em vista que o seu uso tem aumentado cada vez mais entre os adolescentes, sendo esta a população alvo prioritária das campanhas de prevenção nas quais são enfatizados não só os malefícios do tabagismo, mas também o uso de bebida alcoólica (REINALDO *et al.*, 2010).

### **2.3 Programa nacional de controle do tabagismo (PNCT)**

Tendo em vista a necessidade de maior controle do tabagismo, foram criadas estratégias de promoção de saúde no país e desde 1989, o Instituto Nacional do Câncer (INCA), órgão do Ministério da Saúde, tornou-se responsável pela Política Nacional de Controle do Câncer (PNCC), coordenando as ações nacionais do PNCT. Essas ações foram desenvolvidas a partir de parcerias com os setores de maior influência na sociedade, incluindo a comunidade científica e os conselhos de profissionais da área da saúde, com o objetivo de reduzir a prevalência de fumantes e conseqüentemente a morbimortalidade relacionada ao consumo de derivados do tabaco. Esse programa tem ainda como objetivos específicos reduzir a iniciação do tabagismo, principalmente, entre os jovens, aumentar os índices de cessação tabágica entre os que se tornaram dependentes, e proteger a população contra todos os riscos provocados pelo tabagismo passivo (INCA, 2004).

Os pilares do PNCT envolvem a construção de um contexto social e político que possa reduzir a aceitação social do tabagismo, eliminar os estímulos para a iniciação (propaganda e promoção do consumo, facilidade de acesso aos produtos de tabaco), e aumentar os estímulos para a cessação tabágica e o acesso ao tratamento da sua dependência. O programa conta com o apoio das secretarias estaduais e municipais de saúde e, ainda com aproximadamente mais de 600 ativistas que representam a sociedade civil organizada (INCA, 2004).

O uso do tabaco, desde 1996, é regulamentado pela lei 9.294 que dispõe sobre as restrições a seu uso, à propaganda de produtos derivados do Tabaco e sobre as advertências nas

embalagens desses produtos, tendo sido alterada pela Medida Provisória 2.190/2001 e pelas leis 10.167/2000 e 12.546/2011, estando em vigor desde 15 de dezembro de 2011.

Com as alterações introduzidas pela lei 12.546/2011 à lei 9.294/96, ficou proibido o uso de cigarros, cigarrilhas, charutos, cachimbos ou qualquer outro produto fumígeno, derivado ou não do tabaco, em recinto coletivo fechado, privado ou público. Desde então, ficou proibida a utilização dos chamados fumódromos em locais fechados.

A partir de 1995, iniciou-se o processo de efetividade do programa, com a restrição do horário de transmissão de propagandas de produtos de tabaco. O INCA, desde então, desempenhou um papel importante no controle dessas ações, impulsionando a sociedade civil para a concretização do Projeto de Lei que deu origem à Lei Federal 10.167, aprovada em dezembro de 2000, que alterava a Lei 9.294/96, tendo como propósito extinguir as propagandas desses produtos, não sugerir ou induzir seu consumo em locais ou situações perigosas, abusivas ou ilegais e ainda, a proibição de patrocínios de eventos culturais e esportivos por produtos de tabaco. Apesar de toda a pressão contrária que houve naquela ocasião, a legislação brasileira conseguiu estabelecer e manter a proibição de propagandas na TV, rádio, revistas, jornais e outdoors, além da proibição da distribuição de amostras grátis (CAVALCANTE, 2005).

O desenvolvimento de estratégias que cuidam do monitoramento e vigilância do tabagismo é de fundamental importância para a continuidade e o aprimoramento de todas as ações propostas pelo PNCT. Por isso, o governo brasileiro vem investindo, até hoje, com frequentes alterações na lei antifumo que, ficando mais rígida, passou a valer para todo o Brasil a partir de dezembro/2014. Dessa forma, acredita-se que o modelo brasileiro de combate ao tabagismo é considerado hoje referência nacional nas estratégias para extinguir a propaganda do cigarro sendo a legislação brasileira considerada uma das mais fortes do mundo, representando um indicador positivo do processo evolutivo do programa (INCA 2004).

## 2.4 Dependência à nicotina

A nicotina é o principal componente responsável pela dependência ao fumo, caracterizada por uma desordem complexa de difícil superação. O uso progressivo e abusivo do tabaco é formado pelo elo da tríade do vício: tolerância, dependência e síndrome de abstinência. Entretanto, os usuários reconhecem que da mesma forma que fumar é o alimento da fonte do prazer, é também um sofrimento ao ser confrontado com os malefícios causados pelo tabaco. A motivação para deixar o hábito é um dos fatores mais importantes para a cessação do tabagismo sendo relacionada com outras variáveis como: hereditárias, fisiológicas, ambientais e psicológicas (HORTENSE; CARMAGNANI; BRETAS, 2008; RONDINA; GORAYEB; BOTELHO, 2007).

O tabaco usado para produzir cigarros é ácido e, por isso, o fumante precisa tragar para que a nicotina seja absorvida nos pulmões, diferente do tipo de tabaco utilizado para produzir cachimbo e charuto, que é alcalino, e permite que a nicotina seja absorvida pela mucosa oral. Porém, nos dois casos, há uma assimilação tanto da nicotina, quanto do alcatrão e monóxido de carbono, entre outras substâncias que causarão a dependência tabágica, aumentando as taxas de morbimortalidade (PRESSMAN; GIGLIOTTI, 2011). Contudo, a CID-10 (WHO, 1993) configurou a dependência, caso haja a presença de três ou mais das características apresentadas no quadro 1.

Quadro 1 – Características da dependência de nicotina segundo a CID-10.

1	Forte desejo de consumir a substância ou senso de compulsão para tal;
2	Dificuldade em controlar o comportamento de consumir a substância em termos de seu início, término ou níveis de consumo;
3	Estado de abstinência fisiológico quando o uso da substância cessou ou foi reduzido, como evidenciado por: síndrome de abstinência característica para a substância ou uso da mesma substância (ou de outra intimamente relacionada) com a intenção de aliviar ou evitar sintomas de abstinência;
4	Tolerância, ou seja, aumento crescente das doses da substância psicoativa que é requerido para alcançar efeitos originalmente produzidos por doses mais baixas para matar ou incapacitar usuários não tolerantes;
5	Abandono progressivo de prazeres ou interesses alternativos em favor do uso de substância psicoativa, aumento do tempo necessário para obter ou tomar a substância ou para se recuperar de seus efeitos;
6	Persistência no uso da substância, apesar da evidência clara de consequências manifestantes nocivas.

Fonte: a autora.

Para medir o grau de dependência e fazer o diagnóstico, é necessária uma avaliação completa (histórico, tentativas anteriores, grau de motivação, apoio social, comorbidades clínicas e/ou psiquiátricas) para que seja possível definir, junto ao paciente, o tratamento adequado para o momento em que ele se encontra (PRESSMAN; GIGLIOTTI, 2011).



Na prática clínica além da avaliação individual, também se utiliza o questionário de Fagerstrom Test for Nicotine Dependence (FTND), desenvolvido para avaliar o grau de dependência à nicotina (HALTY *et al.*, 2002). De acordo com as Diretrizes para a Cessação do Tabagismo, são utilizados outros métodos que permitem avaliar o grau de dependência à nicotina, que são os testes utilizados para medir o seu principal metabólito, a cotinina, além da avaliação do monóxido de carbono no ar exalado (COex) (REICHERT *et al.*, 2008). Esses testes são muito úteis, quando disponíveis, para monitorar os progressos alcançados pelo fumante em avaliações seriadas.

É importante destacar que ao longo dos anos, foram sendo criados instrumentos/questionários por centros de tratamento de tabagistas no Brasil que pudessem identificar fumantes com baixo consumo (menos de 10 cigarros/dia), mas possivelmente com grau de dependência a nicotina moderada ou elevada, permitindo considerar mais individualizadamente a prescrição de fármacos antitabágicos, facilitando, assim, o processo de cessação em subgrupos de pacientes (ISSA, 2012).

#### 2.4.1 Síndrome de abstinência tabágica

Segundo O'Brien (2001), a síndrome de abstinência é um conjunto de sinais e sintomas geralmente opostos aos efeitos agudos das drogas que causam desconforto intenso ao indivíduo, caracterizando, assim, a dependência física. Em relação ao tabagismo, é a retirada parcial ou total do tabaco por um determinado tempo que, além de causar sensação de fissura, apresenta também os sintomas da abstinência à nicotina que incluem: inquietação, irritabilidade, bradicardia, desconforto gastrointestinal, aumento do apetite, ganho de peso, dificuldade de concentração, ansiedade, tristeza ou disforia, depressão, sonolência e/ou insônia (O'BRIEN, 2001; PRESSMAN; GIGLIOTTI, 2011).

A ação farmacológica da nicotina nas ligações a receptores colinérgicos nicotínicos (nAChR) por diferentes combinações de cadeias de polipeptídios, são denominadas  $\alpha$  e  $\beta$  e estão presentes nos gânglios autonômicos, junção neuromuscular e sistema nervoso central (SNC). Diferentes combinações dessas cadeias estão dispostas na membrana celular, formando um canal iônico. A ligação da nicotina com esses receptores promove alterações em suas conformações causando a abertura desses canais, permitindo a entrada de cátions ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ). No SNC, a nicotina exerce seus efeitos interagindo com nAChRs pré-sinápticos localizados nos terminais dos axônios o que, através da estimulação desses receptores, resulta no aumento da

liberação dos neurotransmissores acetilcolina, dopamina, glutamato, ácido gama-aminobutírico (GABA), norepinefrina e serotonina (PICCIOTTO *et al.*, 2000).

Segundo Dani e Heinemann (1996), várias evidências indicam que baixas concentrações de nicotina causariam inicialmente dessensibilização dos nAChR. Com a exposição prolongada à droga, esses receptores passariam do estado dessensibilizado para o estado inativo e para restaurar a homeostase ocorreria o aumento do número dos receptores.

Parece, ainda segundo esses autores, que os fumantes têm um excesso de nAChR, mas é importante destacar que o ato de fumar mantém concentrações de nicotina suficientes para inativar parte desses receptores. Porém, em função da abstinência, a redução brusca da concentração de nicotina faz com que os receptores inativos recuperem o estado ativo e, dessa forma, um grande número de receptores torna-se responsivo.

Como consequência, da liberação fisiológica da acetilcolina, as vias colinérgicas tornam-se hiperexcitáveis, contribuindo para os sinais e sintomas da abstinência. Devido a todas essas ações, o indivíduo voltaria a fumar, restaurando a concentração de nicotina e reiniciando o ciclo de dessensibilização e/ou inativação dos receptores (PLANETA; CRUZ, 2005).

Evidências científicas têm demonstrado, ainda, que a amígdala é um dos principais componentes do sistema límbico, estando, dessa forma, envolvida na mediação da ansiedade (KESER *et al.*, 2013). Além disso, as neuroadaptações que são observadas na amígdala podem estar relacionadas à ansiedade que é precipitada após a interrupção do uso de tabaco (PANAGIS *et al.*, 2000; TZAVARA *et al.*, 2002).

#### 2.4.2 Tipos de tratamentos e recaída

Devido aos sintomas da abstinência, a fissura, ou *craving*, costuma durar entre um e cinco minutos, sendo importante desenvolver estratégias substitutivas até que o sintoma passe. Para combater a fissura, algumas orientações devem ser transmitidas aos tabagistas pelos profissionais que atuam na sua abordagem.

Os métodos baseados na Terapia Cognitiva Comportamental (TCC) são fundamentais na abordagem do fumante em todas as situações clínicas, mesmo quando é necessário apoio medicamentoso. A TCC deve ser oferecida tanto no atendimento individual quanto em grupo. Consiste em uma forma de abordagem que combina intervenções cognitivas com treinamento de habilidades comportamentais, frequentemente utilizada para o tratamento de dependências. Seus componentes principais consistem na detecção de situações de risco/recaída e no desenvolvimento de estratégias de enfrentamento da dependência (INCA, 2001).

Na TCC, com a abordagem intensiva, costumam-se obter melhores resultados no processo de abstinência onde os atendimentos/sessões devem ser estruturados com periodicidade semanal no 1º mês (cessação), quinzenal até completar a abordagem intensiva (3 meses) e, finalmente, mensal até completar um ano. O fumante deve aprender, durante as sessões, a reconhecer os sintomas e o processo de abstinência, preparando-se para dominá-los, principalmente nos primeiros dias sem fumar. O material de apoio deve ser preparado e fornecido aos pacientes para reforçar as orientações, utilizando-se como modelo as cartilhas elaboradas pelo INCA para o PNCT (INCA, 2001, 2004).

O tratamento farmacológico é recomendado para todo fumante acima de 18 anos com consumo acima de 10 cigarros/dia e muitas vezes é necessário e pode ser utilizado como um apoio para a cessação do tabagismo em situações bem pontuais para alguns pacientes que realmente desejam parar de fumar (PRESSMAN; GIGLIOTTI, 2011). O tratamento tem como função facilitar a TCC que é a base para a cessação de fumar e deve sempre ser utilizada. Existem, no momento, algumas medicações de eficácia comprovada para o tratamento, sendo divididas em duas categorias: medicamentos nicotínicos e medicamentos não nicotínicos.

Os medicamentos nicotínicos, também chamados de TRN, se apresentam nas formas de adesivo, goma de mascar, pastilhas, inalador e aerosol. As duas primeiras correspondem a formas de liberação lenta de nicotina, e são, no momento, as únicas formas disponíveis no mercado brasileiro. O inalador e o aerosol são formas de liberação rápida.

Os adesivos, a goma de mascar ou pastilhas e a bupropiona são considerados medicamentos de 1ª linha e devem ser preferencialmente utilizados. A dosagem dos adesivos deve ser prescrita de acordo com o número de cigarros fumados. Podem apresentar a posologia de 7mg, 14mg ou 21mg de nicotina, devendo-se considerar 1 mg para cada cigarro fumado. No caso de fumantes de mais de um maço por dia, podem-se utilizar dois adesivos de 21mg, segundo critério médico (PRESSMAN; GIGLIOTTI, 2011). O tratamento com a bupropiona deve ser iniciado antes de o paciente parar de fumar, com a dosagem inicial menor e, a partir do momento da abstinência, aumenta-se sua dose; contudo, também deve ser sob orientação médica. A nortriptilina e a clonidina são medicamentos de 2ª linha e só devem ser utilizados após insucesso das medicações de 1ª linha (INCA, 2001).

A dependência pela nicotina, por ser considerada uma doença crônica, possui particularidades no seu tratamento e a recaída faz parte desse processo (PRESSMAN *et al.*, 2005). A recaída é um fenômeno natural no ciclo de qualquer dependência. A maioria dos fumantes realiza de três a dez tentativas até obter a abstinência definitiva (INCA 2001; REICHERT *et al.*, 2008). Porém, o processo da mudança temporária de um comportamento

indesejado é mais fácil do que manter comportamentos adotados no longo prazo para melhorar a qualidade de vida, sendo, portanto, um processo contínuo e complexo que envolve desde fatores individuais até questões afetivas, entre outras.

A recaída consiste no retorno ao consumo regular de cigarro ou outro derivado, mesmo em quantidades menores que o padrão de consumo anterior à cessação. Geralmente, as recaídas ocorrem com maior frequência nos primeiros seis meses de abstinência, independente do uso de medicamentos, resultando em uma nova busca de tratamento. O lapso, diferentemente, consiste na ocorrência de um episódio isolado de consumo de cigarro ou outro derivado, sem que o paciente volte a fumar regularmente. Podem levar ao uso do tabaco sem necessariamente resultar em uma recaída (INCA, 2001).

## **2.5 Influências da cessação do tabagismo**

Apesar do grande investimento em campanhas de esclarecimento à população sobre os malefícios do fumo como forma de combate a esta adicção ou dependência, o impacto para diminuição das morbimortalidades e produção de efeitos na saúde serão somente a longo prazo. Esse alvo não é fácil de ser atingido, principalmente em países como o Brasil, com escassos recursos em saúde pública. A maioria das pessoas nicotino-dependentes relata querer parar de fumar, mas menos de 15% obtém sucesso no longo prazo (CHATKIN; CHATKIN, 2007).

Estudos epidemiológicos estabeleceram fortes relações entre o consumo de cigarros e doenças cardiovasculares (DCV) como arterosclerose. Cerca de um terço das mortes prematuras são devidas ao tabagismo e existe uma significativa redução dos riscos do desenvolvimento de DCV, entre outros benefícios, com a cessação do mesmo (FREUND *et al.*, 1993; JOHNSON *et al.*, 2010; LLOYD-JONES *et al.*, 2010).

Através de múltiplos mecanismos, o tabagismo promove a aterogênese e DCV, incluindo disfunções vasomotoras, neuro-hormonais, hematológicas. A disfunção endotelial é um evento precoce à aterogênese, sendo caracterizada por uma redução na biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) que resulta em processos inflamatórios, vasoconstrição e trombose (STEFFEN *et al.*, 2012). Existe a hipótese de que haja danos causados pela inalação da fumaça do cigarro e o uso de poucos cigarros/dia, como duas unidades, contribuindo para lesões vasculares, aterogênese, aumento do risco de DCV e, ainda, a duplicação do número de células cancerígenas (JOHNSON *et al.*, 2010; PURANIC; CERERMAJER, 2003).

A associação de tabagismo, hipercolesterolemia, hipertensão e Diabetes Mellitus tem sido reportada frequentemente como prejuízos na função endotelial. O tabagismo está associado

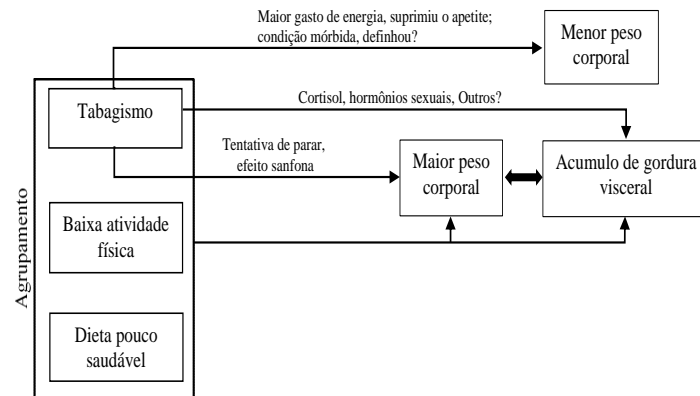
a ambos os efeitos, agudos e crônicos, sobre a função das células endoteliais em humanos. Além de promover o aumento do estado inflamatório, induz também, devido à alta produção de radicais livres originados pelo tabaco, ao estresse oxidativo, em especial nos sistemas respiratório e circulatório (STEFFEN *et al.*, 2012; VOLP *et al.*, 2012).

Contudo, as pesquisas indicam que após a cessação do tabagismo há uma diminuição do risco de infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral relacionado com o tempo de uso do tabaco para um nível quase igual ao de pessoas que nunca fumaram. Em geral, foi visto uma redução desse risco entre 5-10 anos após a abstinência do cigarro (FRÖHLICH *et al.*, 2003; VAN BERKEL *et al.*, 1999). Mesmo com essa boa perspectiva, os sintomas da abstinência (irritabilidade, ansiedade, insônia, aumento do apetite, entre outros) transgridem a necessidade do tabagista, desencorajando-o a manter o tratamento.

Frequentemente, fumantes apresentam menores índices de massa corporal (IMC) quando comparados a não fumantes. Vários estudos (ALBANES *et al.*, 1987, CHATKIN; CHATKIN, 2007, KLESGES; VANDER; SHERRILL-MITTLEMAN, 2009) observaram significativa relação inversa entre o uso regular de tabaco e o peso corporal, tendendo a ser mais baixo entre os fumantes quando comparados aos não fumantes, pareados por sexo e idade. A cessação do tabagismo resulta em aumento de peso corporal tanto em homens como em mulheres, e mais de 75% dos fumantes ganham peso ao tornarem-se abstinentes principalmente pelo aumento do apetite e ansiedade causada pela falta do cigarro (KLEIN; CORWIN; CEBALLOS, 2004)

A relação entre o tabagismo e obesidade não é ainda completamente entendida. Por um lado, a nicotina aumenta agudamente o dispêndio de energia podendo reduzir o apetite, o que provavelmente explica porque os fumantes tendem a ter menor peso corporal. Por isso, existe uma crença popular entre os fumantes de que fumar é uma forma eficiente de controlar o peso corporal e que a cessação do tabagismo é frequentemente seguida por ganho de peso (CHIORELO *et al.*, 2008). Por outro lado, estudos indicam que, pelo menos em países desenvolvidos, fumantes pesados, ou seja, aqueles que fumam um maior número de cigarros/dia (mais que 10 cigarros), possuem uma tendência de maior peso corporal do que os fumantes leves (8-10 cigarros/dia) mesmo com a associação de tabagismo, obesidade e nível socioeconômico inferior. E que, ainda, há evidências crescentes de que o fumo afeta a distribuição da gordura corporal levando a obesidade central e resistência à insulina (CHIORELO *et al.*, 2008, WILD; BYRNE, 2006), como demonstrado na figura 1.

Figura 1: Fatores hipotéticos ligando tabagismo e peso corporal.



Fonte: Adaptado de CHIORELO *et al.* (2008).

De fato, os tabagistas se apresentam de um modo geral mais sedentários, possuem maus hábitos alimentares, quadros de ansiedade, stress, e estudos de coorte (IRIBARREN *et al.*, 1999; WILSON *et al.*, 1997) já haviam confirmado esse perfil no final da década de 90, alertando que, somadas a esses comportamentos foram encontradas nos tabagistas maiores concentrações de colesterol total, IMC e pressão arterial, confirmando maior risco para DCV e doença pulmonar crônica obstrutiva. Da mesma forma, Rodrigues *et al.* (2013) obtiveram, como resultado de um estudo feito com tabagistas em tratamento para cessação tabágica, que a maioria apresentava síndrome metabólica (SM) e alto risco cardiovascular e que 30,4% estavam com a glicemia de jejum alterada, tendo sido encontrada, ainda, uma correlação positiva e significativa entre o IMC, circunferência da cintura (CC) e glicemia. Abaixo, na figura 2, é possível visualizar uma representação dos efeitos do tabagismo, como descrito acima.

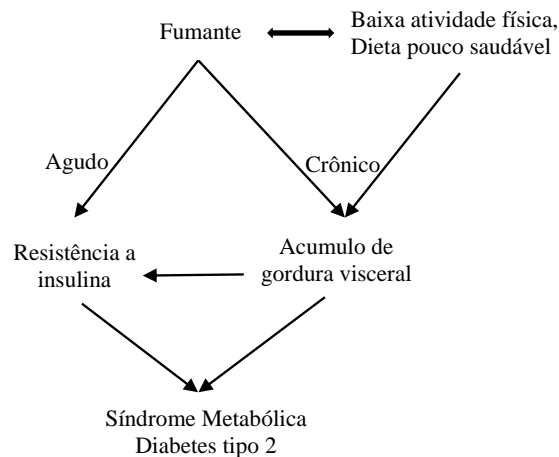
Outro estudo realizado por Lee *et al.* (2005) demonstrou que os tabagistas que consumiam mais de 20 carteiras de cigarros ao ano tinham o risco aumentado de apresentar níveis mais elevados de concentrações de triglicerídeos e mais baixos de HDL-colesterol, quando comparados aos não fumantes. E que, ainda, os valores médios de triglicerídeos e CC aumentavam na mesma proporção que à exposição ao cigarro, demonstrando um risco maior de desenvolver SM entre os fumantes.

Na tentativa da cessação tabágica através de tratamento, foi encontrado em um estudo anterior por Aguiar-Nemer *et al.* (2013) que, após um mês, os abstinentes tiveram menos desejo de fumar em relação aos que continuavam fumando e que os alimentos de maior consumo para reduzir a ânsia e vontade de fumar foram, em primeiro lugar, frutas, seguido de café, água e doces. Os participantes que já apresentavam excesso de peso e risco cardiovascular e sem alterações significativas desses parâmetros, apesar dos que se mantiveram tabagistas, tiveram

aumento do IMC, CC e circunferência abdominal; podendo-se concluir que a redução dos desejos e manutenção dos parâmetros antropométricos podem influenciar positivamente no sucesso do tratamento.

Frequentemente, o tabagismo está associado também à menor ingestão de vitaminas e maior metabolização de antioxidantes. Isso pode resultar entre 20-40% de concentrações plasmáticas menores de vitamina C e 17-50% menores de alfa-caroteno em fumantes, quando comparadas às em não fumantes. Também, podem se apresentar diminuídas as concentrações de selênio e zinco e a atividade da enzima glutathiona peroxidase, enquanto que as concentrações da ceruloplasmina, um marcador do estado oxidativo e inflamatório, podem estar elevadas entre os fumantes crônicos (NORTHROP-CLEWES; THURNHAM, 2007). Portanto, Volp *et al.* (2012), descrevem que as baixas concentrações de vitaminas e minerais antioxidantes estão associadas a concentrações altas de biomarcadores inflamatórios, traduzindo o tabagismo como um forte contribuinte para o efeito direto e bidirecional entre diminuição de antioxidantes e aumento de marcadores inflamatórios.

Figura 2: Representação dos prejuízos do tabagismo.



Fonte: Adaptado de Chiolero *et al.* (2008).

## 2.6 Obesidade e tabagismo

Segundo dados da OMS (2011), sobrepeso e obesidade são os principais riscos para as mortes no mundo. Pelo menos 2,8 milhões de adultos morrem a cada ano devido a essa doença crônica. Além disso, nessa população, 44% adquirem diabetes, 23% cardiopatia isquêmica e até 41% algum tipo de câncer. A OMS estimou, em 2008, que 1,5 bilhões de adultos estavam acima do peso. Desses adultos acima do peso, mais de 200 milhões eram homens e quase 300 milhões eram mulheres obesas e em 2010, cerca de 43 milhões de crianças menores de cinco anos já estavam acima do peso. Esses dados refletem os hábitos adquiridos a partir do século XX que foi marcado culturalmente por uma dieta rica em gorduras, açúcares, alimentos refinados pobres em carboidratos complexos e fibras, contribuindo, dessa forma, para o aumento da obesidade, paralelamente ao declínio progressivo da atividade física (SANTOS *et al.*, 2010).

Nammi *et al.* (2004) definiram que obesidade, em termos simples, seria um estado de desequilíbrio entre calorias ingeridas *versus* calorias gastas, o que levaria a gordura excessiva ou acumulação anormal. Segundo Magdaleno *et al.* (2008), a obesidade é uma doença crônica e, pelos riscos associados, é considerada um grande problema de saúde pública, estimando-se que de 2% a 8% dos gastos com os tratamentos de saúde em vários países do mundo sejam destinados ao tratamento dessa doença.

A obesidade central é caracterizada pela gordura abdominal sendo um indicador de gordura visceral com perfil aterogênico, causando complicações metabólicas, aumentando o fator de risco para doenças cardiovasculares, afetando principalmente adultos e idosos (FARIA *et al.*, 2012). Essa situação se deve ao fato de que o tecido adiposo visceral é metabolicamente mais ativo do que o tecido adiposo subcutâneo, causando uma maior produção de glicose, podendo desenvolver Diabetes Mellitus tipo 2 e hiperinsulinismo. Essa secreção maior de insulina ocasiona retenção de sódio, resultando em hipertensão arterial sistêmica (VOLP *et al.*, 2012).

Mazurek, Zhang e Zalewski (2003) descreveram que a obesidade era caracterizada por excesso de tecido adiposo, sendo interpretado como importante órgão endócrino e parácrino, produtor de diversas substâncias pró-inflamatórias.

Dando continuidade aos estudos, constatou-se que a proliferação de casos de obesidade continuava aumentando na população mundial e, quando associada ao tabagismo, elevava ainda mais a incidência de DCV. Estudos clínicos e epidemiológicos demonstravam que fumantes pesavam menos que não fumantes e ganhavam peso quando paravam de fumar, o que de fato



ainda é um dos obstáculos à cessação do tabagismo, especialmente em mulheres (FILOZOF; FERNÁNDEZ-PINILLA; FERNÁNDEZ-CRUZ, 2004). Dessa forma, ambas as situações desencadeiam uma grande degradação no sistema endotelial das artérias.

Por um lado, o tabagismo promove aumento do estado oxidativo e inflamatório e, assim, a inflamação subclínica pode ser a condição desencadeante para o desenvolvimento de doenças crônicas. As células endoteliais se tornam ativadas com o tabagismo e o resultado da disfunção endotelial é a produção acelerada de radicais livres, expressão de moléculas de adesão celular (MAC), citocinas e quimocinas, as quais facilitam a aderência e a transmigração endotelial de leucócitos (VOLP *et al.*, 2012).

Do outro lado, a obesidade ameaça encurtar a expectativa de vida em pelo menos 5 a 20 anos devido às doenças associadas, uma vez que o excesso de trabalho do organismo e processos inflamatórios causados por esse estado demonstram que as interações entre o sistema metabólico e os subconjuntos de células do sistema imunitário têm papel central de patogêneses relacionadas à obesidade, como um estudo que sugeriu que a resistência à insulina desencadeada pela obesidade além de causar disfunção endotelial, também pode prejudicar a resposta imune adaptativa (KANNEGANTI; DIXIT, 2012).

Em indivíduos vulneráveis, a aterosclerose se desenvolve por meio da influência de condições que lesionam o endotélio, como o tabagismo e a obesidade e, ainda, hipertensão arterial sistêmica, hipercolesterolemia, diabetes e envelhecimento. Esses fatores irão danificar o endotélio e estimular uma reação inflamatória/proliferativa na parede vascular. Tal reação aumenta a secreção de citocinas pró-inflamatórias primárias, como a IL-1 e o TNF- $\alpha$ . Elas são responsáveis desencadeadoras pela expressão de moléculas de adesão leucocitária e amplificadoras da cascata inflamatória (GOMES *et al.*, 2010).

Apesar das contínuas recomendações e ações de prevenção realizadas pela saúde coletiva, através da diminuição das calorias ingeridas e aumento do tempo de atividade física diárias, a epidemia da obesidade se mantém e a preocupação com o aumento da incidência das doenças associadas e seus respectivos tratamentos refletem atualmente diminuição de expectativa e qualidade de vida.

## 2.7 Óxido nítrico (NO)

O NO é uma pequena molécula, gasosa, de meia vida muito curta, que após 0,1s é convertida em nitrito e rapidamente oxidado em nitrato. Os níveis de nitrito no soro são medidos como um marcador indireto da formação de NO *in vivo* (GHASEMI *et al.*, 2008). Atua como

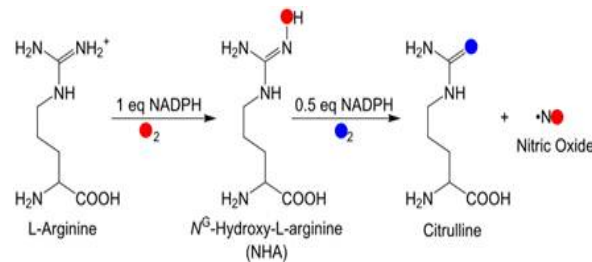
um importante neurotransmissor com capacidade potencializadora, agindo na memória e no aprendizado, podendo também ter ações endócrinas, autócrinas e parácrinas. A sua ação na imunorregulação está presente na inflamação e nos mecanismos de autoimunidade (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

O NO foi inicialmente evidenciado em pesquisas científicas no início da década de 80 quando experimentos demonstraram a produção de nitratos em camundongos germ-free, comprovando a biossíntese de  $\text{NO}_3$  em homens saudáveis, em um estudo do balanço metabólico (GREEN *et al.*, 1981, 1981a). Hegesh e Shiloah (1982) observaram em seus estudos que, constantemente, eram encontradas altas concentrações de  $\text{NO}_3$ , em crianças com diarreia aguda por várias origens, levando pela primeira vez a aceitarem uma associação entre a produção de  $\text{NO}_3$  e o sistema imunológico. A partir daí, a comunidade científica desenvolveu uma série de estudos demonstrando a importância do NO em vários aspectos.

Foi demonstrado que macrófagos ativados por lipopolissacarídeos bacterianos eram capazes de levar à produção de nitritos e nitratos (STUEHR; MARLETTA, 1985). Um pouco mais tarde foi evidenciado que a L-arginina era o substrato e a L-citrulina era formada como co-produto (HIBBS; TAINTOR; VAVRIN, 1987). Seguindo essa linha de pesquisa, Marletta *et al.* (1988) identificaram o NO como o produto da reação de oxirredução da L-arginina e quase que simultaneamente, Furchgott *et al.* (1984), que investigavam um fator vasodilatador associado ao endotélio vascular (endothelium-derived relaxing fator) (EDRF) e Ignarro *et al.* (1987) concluíram em sua pesquisa que o NO seria responsável pela atividade biológica do EDRF. Reforçando essa ideia, Snyder e Brecht (1992) observaram que animais portadores de uma deficiência de macrófagos apresentavam baixa excreção de  $\text{NO}_3$ . Todos esses estudos levaram, enfim, a uma estreita relação, estabelecendo definitivamente uma associação entre a presença de macrófagos, a resposta imune e a síntese de  $\text{NO}_3$  (DUSSE *et al.*, 2003).

A reação química da formação do NO é expressa quando a L-arginina é transformada em um intermediário, a NG-hidroxi-L-arginina, com a presença de nicotinamida-adenina dinucleotídeo-fostato-hidrogênio (NADPH) e íons cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), sendo necessário mais NADPH e  $\text{O}_2$  para a formação de L-citrulina e NO (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000), como demonstrado na figura 3. Embora o NO tenha ficado conhecido por ser um potente vasodilatador, não pode ser considerado um bom sinalizador de moléculas biológicas, pois seu elétron desemparelhado torna-o muito reativo e sua degradação origina o corrosivo ácido nítrico.

Figura 3- Estrutura da formação do NO.



Fonte: The Marletta Laboratory (2015).

A primeira etapa da produção de NO é uma reação de hidroxilação e em seguida, um elétron oxida a N-hidroxi arginina. O NO não pode ser armazenado para liberação posterior, difunde-se para as células de um modo que não necessita de uma proteína receptora, e não necessita de enzima de degradação, pois se degrada por si próprio sendo produzido, portanto, somente quando e onde é necessário (BARRETO; CORREIA; MUSCARÁ, 2005). Por ser um radical livre gasoso, o NO não pode ser introduzido diretamente no organismo, mas uma fonte indireta de NO tem sido utilizada em clínica por mais de um século. Indivíduos que sofrem de *angina pectoris*, uma condição dolorosa causada por obstrução das artérias coronárias, podem aliviar seus sintomas ao tomarem nitroglicerina, estimulando rapidamente a vasodilatação e aliviando temporariamente os sintomas da angina (KATZUNG, 2013).

O NO é sintetizado a partir da L-arginina por pelo menos três isoformas, a óxido nítrico sintase constitutiva (cNOS) ou neuronal (nNOS), a óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e uma isoforma induzível (iNOS), sendo envolvido tanto em respostas fisiológicas quanto patológicas (ELABRAS FILHO *et al.*, 2011).

Através de estudos bioquímicos foi revelado que essas três isoformas representam uma família de proteínas devido a sua sequência de aminoácidos e que, possivelmente, são produtos de três genes distintos agrupando-se em duas categorias: a cNOS, dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  e de calmodulina, que está envolvida na sinalização celular. Esta compreende também a nNOS, que normalmente está presente nos neurônios e a iNOS, produzida por macrófagos e outras células ativadas por citocinas (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000; DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003; KESER *et al.*, 2013). O NO possui ação citotóxica e citostática, quando resultante da ativação da iNOS, gerando a destruição de estruturas como parasitas e células tumorais. Sua citotoxicidade é resultante da ação direta e/ou da reação do NO com os compostos liberados no processo inflamatório. A eNOS está presente normalmente nas células endoteliais vasculares e nas plaquetas (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000; DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003; KESER *et al.*, 2013).

Derivado do endotélio e sintetizado no endotélio arterial, o NO é um potente vasodilatador endógeno que contribui para as funções arteriais normais afetando tanto a função das plaquetas quanto a proliferação de células do músculo liso. O endotélio é responsável pela manutenção da homeostase vascular e em condições fisiológicas, mantém o tônus vascular, o fluxo sanguíneo, a fluidez da membrana plasmática, o equilíbrio entre coagulação e fibrinólise, a inibição da proliferação e da migração celular e o controle da resposta inflamatória (YUGAR-TOLEDO, 2000).

A diminuição do relaxamento vascular por redução da biodisponibilidade de fatores derivados do endotélio, principalmente de NO, é a definição da disfunção endotelial que, levando a essa redução da liberação de NO basal, pode causar respostas vasomotoras anormais. Fatores de risco cardiovasculares, como o envelhecimento, hipercolesterolemia, hipertensão e o uso contínuo de cigarros são conhecidos potencializadores da disfunção endotelial que, provavelmente, compromete a produção e leva a um aumento de radicais livres induzindo ao estresse oxidativo (STEFFEN *et al.*, 2012).

O uso do tabaco é associado ao desenvolvimento dessas doenças crônicas não transmissíveis, possivelmente através de mecanismos que envolvem o aumento do estresse oxidativo e do NO, causando, então, a inativação no endotélio vascular. A nicotina tem a capacidade de favorecer o crescimento celular e a produção endotelial de NO; as prostaciclina e o fator de crescimento do endotélio vascular podem ter participação nesses efeitos. O aumento da oxidação das lipoproteínas de baixa densidade em fumantes tem efeito simultâneo na adesão e na migração de monócitos, portanto, o tabagismo também pode potencializar a trombose na disfunção endotelial, por meio do aumento da concentração plasmática de fibrinogênio e de alterações na atividade plaquetária (YUGAR-TOLEDO; MORENO JÚNIOR, 2002). Contudo, suporta-se a ideia de que o uso contínuo de cigarros prejudica o relaxamento dependente do endotélio mediado pela produção alterada de NO em artérias e veias desempenhando, portanto, um papel crítico na determinação da função endotelial (GUVEN; TOLUN, 2012).

A proteção dos vasos sanguíneos se faz através da produção de NO resultante da eNOS e esse processo está associado a:

- manutenção do tônus vascular quando há uma constante liberação de pequenas quantidades de NO sempre que há o *shear-stress*, ou seja, um aumento do atrito das células circulantes sobre a camada endotelial do vaso, resultando, assim, em uma discreta vasodilatação;
- a regulação da pressão sanguínea beneficiada pela liberação de NO em condições fisiológicas normais;

- a prevenção da aterosclerose devido à inibição da adesão de monócitos e neutrófilos ao endotélio vascular pela liberação adequada de NO;
- e ao efeito antioxidativo, contribuindo para prevenção de doenças tromboembólicas, pois o NO produzido pela eNOS induz à produção da enzima superóxido dismutase na camada muscular do vaso e extracelular, diminuindo o O<sub>2</sub> disponível e, conseqüentemente, à produção de peroxinitrito (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003).

Apesar dos vários benefícios relacionados ao NO, é importante destacar que a sua produção excessiva pode estar associada a uma série de condições danosas ao organismo, merecendo destaque neste estudo, o estresse oxidativo.

### 2.7.1 Estresse oxidativo

O desequilíbrio entre os sistemas oxidante/antioxidantes em favor de oxidantes é denominado estresse oxidativo. Essa condição contribui para várias patologias, como câncer, distúrbios neurológicos, aterosclerose, hipertensão, isquemia, diabetes, doenças respiratórias agudas, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e asma (BIRBEN *et al.*, 2012).

O estresse oxidativo promove uma resposta de fase aguda sistêmica possivelmente por NF-κB e a indução de citocinas. A associação de doenças crônicas não transmissíveis com uma variedade de marcadores de fase aguda podem indicar diretamente respostas inflamatórias. Outras variáveis podem contribuir para o estado de estresse oxidativo, como o tabagismo e a obesidade que constituem fatores de risco modificáveis para muitas doenças relacionadas à idade. Além disso, podem modular o risco forte e independente para o desenvolvimento de doenças coronarianas (FRÖHLICH *et al.*, 2003; VASSALE *et al.*, 2009).

Quando o estresse oxidativo ocorre, as células tentam neutralizar os efeitos oxidantes e restaurar o equilíbrio redox pela ativação ou adormecimento de genes que codificam enzimas de defesa, transcrição de fatores e proteínas estruturais. A relação entre a glutatona oxidada e reduzida é um fator determinante para o estresse oxidativo.

Para o melhor balanço oxidativo, antioxidantes endógenos são capazes de eliminar esses agentes mantendo assim a função celular normal. Uma maior produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) no organismo podem mudar a estrutura do ácido desoxirribonucléico (DNA), dando origem à modificação de proteínas e lipídios e à ativação de vários fatores de transcrição induzidos por estresse e produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (BIRBEN *et al.*, 2012; PIRES *et al.*, 2012).

Cada vez mais, há a necessidade de estudos que demonstrem que o estresse oxidativo desencadeia relevantes implicações sobre os mecanismos que culminam com o desenvolvimento de doenças e fatores exógenos, como dieta e atividade física, podem ser potentes moduladores benéficos à saúde.

## **2.8 Citocinas, interleucinas e resposta inflamatória**

Citocinas são proteínas de baixo peso molecular, com diversas funções metabólicas e endócrinas, que participam da inflamação e resposta do sistema imune, sendo produzidas por vários tipos de células, tanto no local da lesão, quanto nas células do sistema imunológico, através da ativação de proteinoquinases, ativadas por mitógenos. As citocinas desempenham um papel importante no controle e modulação das reações do organismo contra anticorpos e agentes estranhos, como também nas respostas inflamatórias locais e sistêmicas (KALAYCI *et al.*, 2014).

As citocinas atuam por mecanismos parácrino e autócrino, não sendo armazenadas como moléculas, desempenhando ações semelhantes por variadas citocinas (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Geralmente uma citocina estimula suas células-alvo a produzir novas citocinas, ligando-se a receptores específicos que ativam mensageiros intracelulares que, por sua vez, regulam a transcrição gênica.

Assim, além de regular a atividade e a produção de outras citocinas, elas influenciam a atividade, a diferenciação, a proliferação e a sobrevivência da célula imunológica que, devido às ações pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias, podem, respectivamente, aumentar ou diminuir a resposta inflamatória (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A maioria das citocinas secretadas a partir do sistema imunológico é uma interleucina e sua função principal é estimular as células do sistema imunológico. Existe um equilíbrio constante entre as citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (KALAYCI *et al.*, 2014) e suas ações são de acordo com o ambiente em que estão localizadas. As interleucinas (IL) 1, 2, 6, 8, 12, 16, 18 (IL1, IL2, IL6, IL8, IL12, IL16 e IL18), TNF- $\alpha$  e interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) são consideradas pró-inflamatórias, as quais participam na amplificação do processo inflamatório e as anti-inflamatórias são 4, 5, 10, 13 e 19 (IL4, IL5, IL10, IL13 e 19). Todas mantêm o equilíbrio da resposta imune (KUNZ *et al.*, 2011).

As citocinas são agrupadas em IL numeradas sequencialmente de IL-1 a IL-35, TNF- $\alpha$ , quimiocinas (citocinas quimiotáticas), interferons e fatores de crescimento mesenquimal, uma vez que a sua classificação quanto à célula de origem ou quanto à função biológica não é viável

(OLIVEIRA *et al.*, 2011). Nesse estudo, foram analisadas as citocinas IL-8, IL-1  $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-12p 70 e TNF- $\alpha$ , que fazem parte da composição do Kit CBA (CBA Human Inflammatory Cytokines Kit).

A IL-8 é uma citocina secretada por vários tipos de células, inclusive linfócitos T e macrófagos em resposta a estímulos inflamatórios. Quando é liberada na circulação, atrai neutrófilos, basófilos, linfócitos T e promove a angiogênese até o foco infeccioso. Tem sido relacionada com a patogênese desencadeada por vírus respiratórios e sua elevação indica maior gravidade da doença (NAOUM, 2009). A IL-1 é positivamente regulada em DCV, obesidade e infecção. Os seus níveis são aumentados em placas ateroscleróticas e em infecções bacterianas (BEAULIEU *et al.*, 2014).

A IL-6 é uma citocina multifuncional que está implicada na regulação de respostas imunes e eventos celulares. É uma citocina com potente atividade antiviral, com grande atuação na resposta imunológica durante a fase aguda de uma infecção (NAOUM, 2009). Pode ativar vias de sinalização das quinases e fatores de transcrição.

O TNF- $\alpha$  pode ser produzido por macrófagos ativados, linfócitos ou monócitos. O principal efeito fisiológico do TNF- $\alpha$  é promover a resposta imune e a inflamatória por meio do recrutamento de neutrófilos e monócitos para o local da infecção, além de ativá-los. Quando liberado em baixas concentrações, age nas células endoteliais promovendo vasodilatação e estimulando-as a secretarem citocinas que têm ação quimiotática em relação aos leucócitos, promovendo, assim, um processo inflamatório local possibilitando o combate a quadros infecciosos (VITALE; RIBEIRO, 2007).

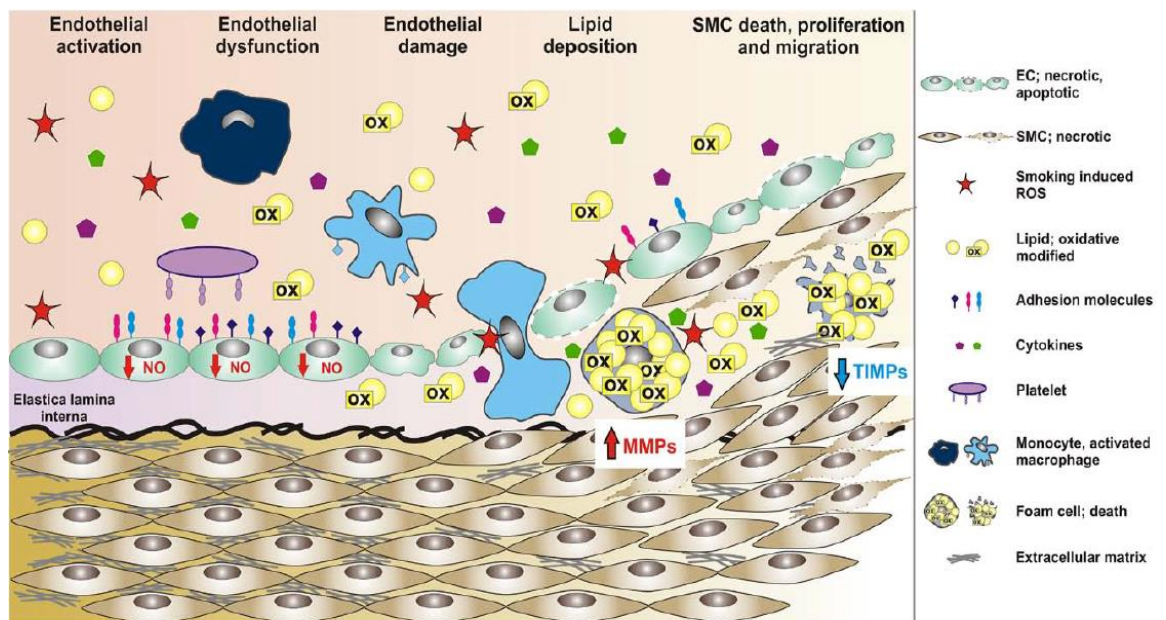
A IL-12, uma citocina heterodimérica, é uma das mais importantes citocinas inflamatórias que atua nas respostas imunes inata e adaptativa. É produzida principalmente por células com antígenos com papel decisivo da resposta imune a antígenos exógenos e endógenos. A IL-12 é composta por duas subunidades proteicas com ligação dissulfeto designadas p35 e p40 que são codificadas por dois genes diferentes que, juntas, formam a IL12p70 (MARTIN *et al.*, 2012). Essa citocina é um intermediário importante entre a imunidade inata e adaptativa, pois é secretada sob estimulação de monócitos/macrófagos e células dendríticas, ativa a produção e proliferação de interferon e também a atividade citolítica das células natural *killer* e linfócitos T.

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória secretada pelos linfócitos T auxiliares – tipo 2 (Th2) que regula a resposta imune, inibindo reações alérgicas. Tem um papel central na infecção por limitar a resposta imunitária aos agentes patogênicos evitando, assim, danos ao hospedeiro (SARAIVA; O’GARRA, 2010).

Além da relação das citocinas com os processos inflamatórios e anti-inflamatórios, é importante comentar que a disfunção endotelial tem como resultado a produção de EROs, a expressão de MAC, as citocinas e as quimiocinas, que facilitam a aderência e a transmigração endotelial de leucócitos. “Os monócitos que residem na parede das artérias se tornam ativados por citocinas pró-inflamatórias e se diferenciam em macrófagos” (VOLP *et al.*, 2012), sendo que esses macrófagos ativados e os linfócitos aumentam a expressão das MAC, citocinas, fatores de crescimento e metaloproteinases, resultando em maior recrutamento de mais leucócitos para a parede das artérias, ativando as vias do sistema complemento do sistema imune, as proteínas de fase aguda, promovendo a deposição de um tecido fibroso.

Ainda de acordo com Volp *et al.* (2012), os macrófagos estimulam a proliferação e migração das células musculares lisas. Esses autores afirmam, também, que as lipoproteínas de baixa densidade-oxidadas podem ser capturadas pelos macrófagos através do receptor carreador LOX-1, levando à formação das células espumosas, como demonstrado na figura 4.

Figura 4: Representação esquemática das vias de sinalização induzidas pelo tabagismo na parede dos vasos



Fonte: Messner; Bernhard (2014)

“Os macrófagos ativados produzem uma matriz de compostos citotóxicos, incluindo as EROs, como ânion superóxido, o radical hidroxila, peróxido de hidrogênio e NO, que são altamente tóxicos” (MACMICKING *et al.*, 1997). Dentro desse contexto, Pires *et al.* (2012) descrevem que os oxidantes promovem acumulação de macrófagos, retenção, e a ativação, de



forma independente, de outros estímulos pró-inflamatórios. Altos níveis de NO produzidos por macrófagos ou por neutrófilos ou outras células ativadas, que deveriam ser tóxicos para microrganismos, parasitas ou células tumorais, podem também lesar células vizinhas saudáveis, sendo esse mecanismo responsável pela maioria de processos inflamatórios e autoimunes (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

Johnson *et al.* (2010), Robbins (2006) e Volp *et al.* (2012) comentam que o impacto do tabagismo sobre o sistema imunológico e seu efeito pro-inflamatório está relacionado ao desenvolvimento da aterogênese mediada pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo que esse processo é agravado com o maior tempo do uso do cigarro. Volp *et al.* (2012) descreveram que “as células endoteliais se tornam ativadas resultante de diferentes fatores como a hipercolesterolemia, hipertensão, tabagismo e diabetes”.

Há a hipótese de que a inflamação das células endoteliais causada pelo tabagismo, ou mesmo pela fumaça do cigarro inalada, contribui para lesões vasculares, aterogênese e aumento do risco de doenças cardiovasculares. E que apenas dois cigarros/dia podem duplicar o dano no núcleo celular das células endoteliais circulantes no sangue (JOHNSON *et al.*, 2010).

Um estudo anterior, realizado por Robbins *et al.* (2006), avaliou fumantes com doenças respiratórias e sugeriu que a fumaça do cigarro afeta as respostas antivirais primárias mas a proteção imunológica secundária se mantém normal. Porém, nos fumantes com doenças respiratórias crônicas, as respostas inflamatórias se apresentaram exageradas contribuindo para o declínio do estado clínico em relação à doença.

O processo inflamatório também está presente na obesidade, levando à produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias e esse processo está diretamente ligado à resistência à insulina. A sensibilidade à insulina e a produção de NO sugerem uma ligação entre a função endotelial e secreção de insulina. Com isso, os indivíduos com reduzida liberação de NO podem adquirir uma predisposição para a aterogênese e aumento da produção de trombos. Vários estudos parecem apontar para o fato de que o NO e secreção de citocinas em mulheres na pós-menopausa estariam alterados (GUSTAFSON, 2010; CHEDRAUI *et al.*, 2011; CHEDRAUI *et al.*, 2012).

Portanto é provável que a produção adequada de NO possa exercer efeitos benéficos e anti-inflamatórios para indivíduos com as características descritas anteriormente e que a prevenção e o controle desses fatores possam evitar maiores complicações para indivíduos com doenças relacionadas ao uso do tabaco.

### 3 JUSTIFICATIVA

Devido à importância da elucidação sobre respostas inflamatórias imunes adequadas para manter o equilíbrio entre saúde e doença, são necessários mais estudos para a compreensão do impacto do uso contínuo do cigarro e seus agentes maléficos ao organismo humano produzindo, assim, novos alvos terapêuticos no tratamento da abstinência do tabagismo e prevenção de doenças relacionadas à sua adicção.

### 4 HIPÓTESES

- Os valores de NO estarão aumentados em função do número de cigarros fumados.
- Existirá correlação da idade, do IMC, do número de cigarros/dia e da CC com os níveis de NO.
- Os valores de NO serão reduzidos após o tratamento de 4 meses para abstinência tabágica.
- Os resultados dos marcadores inflamatórios encontrados no início e no final do tratamento confirmarão a extensão dos processos inflamatórios.

### 5 OBJETIVO GERAL

Avaliar os metabólitos do óxido nítrico e os marcadores inflamatórios em tabagistas no tratamento para abstinência.

### 6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o perfil inicial das medidas antropométricas, grau de dependência tabágica e do NO dos tabagistas no início do tratamento para abstinência.
- **Artigo 1:**  
**Título:** Concentração sérica do óxido nítrico em tabagistas e não tabagistas com excesso de peso.

**Objetivo:** Avaliar a concentração sérica do NO em mulheres tabagistas e mulheres não tabagistas com excesso de peso e correlacionar a idade, o IMC, o número de cigarros/dia e a CC com os níveis de NO.

- **Artigo 2:**

**Título:** Comparação da concentração sérica do óxido nítrico em tabagistas no início e após 4 meses de tratamento para cessação tabágica.

**Objetivo:** Comparar a concentração sérica de NO em tabagistas no início e após 4 meses de tratamento para abstinência tabágica e correlacionar com os marcadores inflamatórios.

## 7 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de intervenção, com amostra de conveniência, em que foram avaliados os participantes do Centro Interdisciplinar de Pesquisa e Intervenção em Tabagismo do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (CIPIT-HU/UFJF) no início do tratamento para abstinência e aqueles que se mantiveram abstinentes após 4 meses de tratamento, tanto homens quanto mulheres, maiores de 18 anos que aceitaram participar da pesquisa através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (CAAE: 26318914.0.0000.5147, número: 566.857 - 20/03/14). O CIPIT-HU/UFJF funciona no primeiro andar do HU/CAS e atende à demanda de 40 fumantes sorteados por trimestre para iniciar o tratamento para a cessação do tabagismo baseado em sessões estruturadas propostas pelo INCA. Entretanto, desses 40 indivíduos, aproximadamente 20 concluem o tratamento. Com isso, pretendia-se avaliar 100 fumantes que iniciaram o tratamento, pois, segundo Cinciprini (1997) apud INCA (2001), pesquisas mostram que, da maioria dos fumantes que deseja parar de fumar, apenas cerca de 3% conseguem parar definitivamente a cada ano sem o apoio formal e que esse percentual pode ter um acréscimo quando é feita a abordagem rotineira dos fumantes pelos profissionais de saúde, durante o tempo de tratamento previsto de 4 meses. Esses indivíduos foram avaliados no primeiro dia do tratamento, ao ser realizada a avaliação antropométrica. Nesse mesmo dia, foi marcada a avaliação bioquímica para cada participante de acordo com sua disponibilidade.

Não foram incluídos no estudo, sujeitos portadores de cardiopatias graves, hepatopatias, doença renal crônica ou aguda, neoplasias, doenças neurológicas, psiquiátrica e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Os sujeitos com essas doenças puderam manter o tratamento e participaram das reuniões quinzenais.

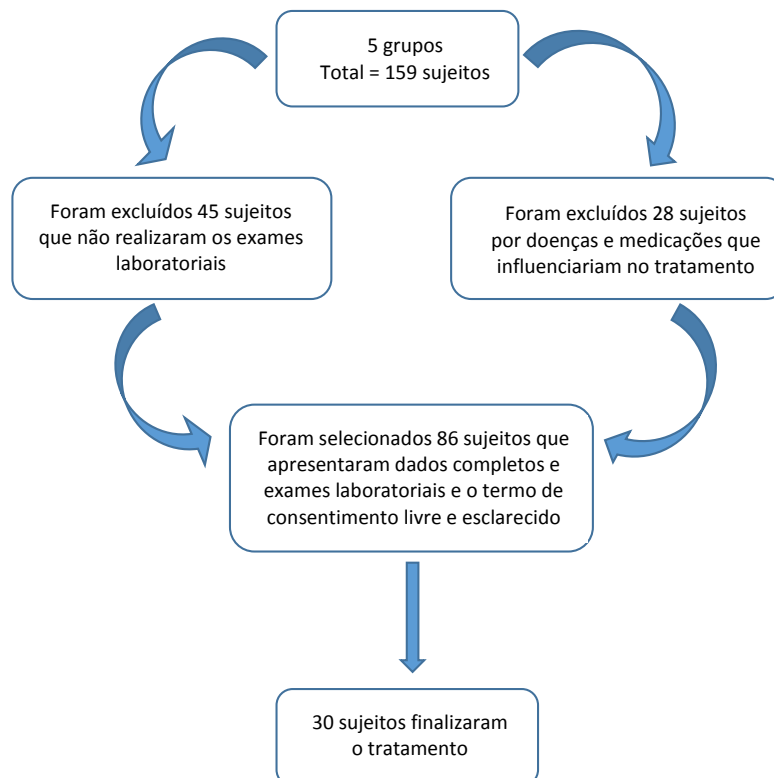
Foram convidadas, também, a participar desse estudo para compor o grupo controle do artigo 1, mulheres com sobrepeso que faziam parte de um outro projeto existente no HU-UFJF intitulado “Educação alimentar e nutricional para adultos com excesso de peso: impacto na adesão ao tratamento, nas práticas alimentares, no perfil nutricional e bioquímico.” Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (nº CAAE 11822413.2.0000.5147) e dele participaram aquelas que assinaram o TCLE.

## 7.1 Participantes do estudo

Iniciaram o tratamento para abstinência 159 tabagistas que se inscreveram no CIPIT-HU/UFJF. Todos os participantes foram instruídos, após a anamnese e avaliações estipuladas, a realizar os exames bioquímicos, sendo que 45 tabagistas não se apresentaram na data marcada para a realização destes.

Do novo subtotal de tabagistas (n= 114), 28 participantes foram excluídos por motivos de doença e utilização de medicamentos que poderiam alterar os resultados dos exames pré-estabelecidos. O grupo de estudo foi formado, portanto, por 86 sujeitos tabagistas que estavam aptos a participar de todas as reuniões, consultas e intervenções propostas pelo projeto. Destes, 56 participantes abandonaram o projeto ao longo do processo, restando 30 participantes que concluíram o tratamento após quatro meses, como demonstrado na figura 5.

Figura 5 – Esquema de seleção dos participantes da pesquisa.



Fonte: a autora.

## 7.2 Procedimentos de coleta dos dados

No primeiro dia, os fumantes foram recebidos pela equipe multiprofissional que explicou os procedimentos que seriam adotados durante o tratamento. Este foi iniciado, então, com uma anamnese clínica realizada por um profissional de saúde capacitado para o tratamento do tabagismo e atuante no ambulatório. Em seguida, acompanhados por equipe multiprofissional do Ambulatório e pelos residentes do Programa de Residência Multiprofissional em Saúde do Adulto do HU/UFJF devidamente treinados pelos coordenadores da pesquisa, tiveram seu estado nutricional avaliado por medidas antropométricas e preencheram questionários específicos descritos abaixo.

Após a primeira avaliação clínica e antropométrica, os participantes iniciaram as quatro sessões estruturadas semanais para a abstinência tabágica com duração de 1 mês. A seguir, os ex-fumantes ou ainda fumantes tiveram sessões quinzenais de acompanhamento por dois meses, e sessões mensais até o quarto mês. Para a manutenção da abstinência, todos os participantes do estudo utilizaram TRN, conforme esquema terapêutico proposto pelo médico do Ambulatório. O tipo de tratamento medicamentoso foi considerado na análise dos resultados.

Em todos os encontros, os participantes fizeram uma avaliação antropométrica e os exames bioquímicos foram marcados e realizados após a anamnese clínica, de acordo com a disponibilidade dos sujeitos.

Antes do preenchimento dos questionários listados abaixo, os participantes foram informados sobre a garantia de anonimato quanto às suas respostas.

- Anamnese Clínica: foi utilizada a anamnese clínica de rotina do ambulatório com informações sócio-econômicas e de identificação do paciente, história tabágica, presença de sintomas clínicos e comportamentais, expectativas sobre o tratamento/ motivação;
- Peso Corporal: foi determinado utilizando-se balança digital. O avaliado ficou descalço e usou roupas leves. O mesmo pisou sobre a plataforma permanecendo por alguns segundos até a leitura do seu peso no display da balança;
- Estatura: foi medida utilizando estadiômetro portátil (Altuxata). O paciente permaneceu de pé, descalço, com os braços estendidos ao longo do corpo, cabeça ereta com os olhos fixos à frente e calcanhares juntos, tocando a haste vertical do estadiômetro. O indivíduo foi instruído a inspirar profundamente enquanto a haste horizontal do estadiômetro era abaixada até o ponto mais alto da sua cabeça e registrada a estatura;

- Índice de Massa Corporal: índice utilizado para classificação do estado nutricional, calculado pela fórmula:  $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura (m}^2\text{)}$ . A classificação do estado nutricional foi realizada conforme proposto pela OMS (1998) para adultos. As categorias de referência para a sua classificação são: eutrófico (de 18,5 a 24,9 kg/m<sup>2</sup>); sobrepeso (25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup>); obesidade grau 1 (OB1) (de 30 a 34,9 kg/m<sup>2</sup>); obesidade grau 2 (OB2) (35 a 39,9 kg/m<sup>2</sup>); obesidade grau 3 (OB3) ( $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup>).

- Circunferência da cintura: foi medida com o indivíduo em pé, utilizando fita métrica flexível. A fita circundou o indivíduo no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca (na curvatura natural) com a leitura feita no momento da expiração. A interpretação dos resultados seguiu os pontos de corte propostos pelo International Diabetes Federation (2006), onde  $CC \geq 94$  cm e  $\geq 80$ cm indica risco de doença cardiovascular para homens e mulheres, respectivamente.

- Teste de Dependência de Nicotina de Fagerstrom: consiste em seis questões que visam a identificar o comportamento dos fumantes. Para cada pergunta do questionário há um valor correspondente. Os valores, quando somados, resultam em um score que indica o grau de dependência: baixa (0 a 4 pontos), moderada (5 pontos) ou alta (5 a 10 pontos) (HALTY *et al*; 2002)

Foram realizados os exames laboratoriais de glicemia e insulina dos participantes no início do acompanhamento e após quatro meses. Foi calculado o índice de HOMA-IR utilizando a seguinte fórmula:  $HOMA-IR = [\text{insulina mU/L} \times \text{glicose mmol/L} / 22,5]$ .

Os exames foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do HU/UFJF, utilizando kits específicos de rotina e disponíveis no referido laboratório. Após coleta de sangue em jejum de 8 a 12 horas, o soro foi armazenado em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise imunológica e do NO.

A concentração de NO (indiretamente determinada pela dosagem de nitrito) foi avaliada pelo método de *Griess*. O excesso de proteínas foi removido por precipitação em ácido/sal. Para realização do teste, 100 $\mu\text{L}$  dos soros foram transferidos para placas de 96 poços, posteriormente foi acrescentado igual volume de reagente de Griess (1% de sulfanilamida, 0,1% de N-(1-naftil)-etileno diamina hidrocloreto, 5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , Sigma, St. Louis, MO, USA). A concentração de NO foi determinada por comparação com uma solução padrão de nitrito de sódio.

O perfil inflamatório foi avaliado através das dosagens de citocinas. As citocinas (IL-8, IL-6, IL-1 $\beta$ , IL10, IL12p70 e TNF- $\alpha$ ) foram avaliadas por kits de CBA (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). A aquisição e a análise dos padrões e das amostras foram feitas no citômetro de fluxo FACSCalibur usando o software CBA Isotype Analysis (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA).

### 7.3 Análise estatística

Inicialmente, para descrever o perfil inicial dos tabagistas, foram testados os pressupostos de normalidade pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Os dados apresentaram características não paramétricas e, portanto, os resultados descritivos foram apresentados através dos valores da mediana e dos valores mínimo e máximo de cada uma das variáveis de análise do estudo.

Todas as análises foram realizadas por sexo, sendo que para análise da mediana da variável NO, optou-se por dividir os dados, também, em tercís (25, 50 e 75 tercís). A análise do número de cigarros /dia foi categorizada com base em Issa (2012): nível 1 (de 1 a 10 cigarros/dia); nível 2 (11 a 20 cigarros/dia), nível 3 ( $\geq 21$  cigarros/dia). Em todas as análises, foi considerado o nível de significância  $\alpha= 0,05$ . A análise estatística foi realizada utilizando o programa PASW 18.0. As análises estatísticas referentes aos dados dos artigos 1 e 2 se encontram no texto específico de cada um deles.

### 7.4 Resultados

Para atender ao objetivo do estudo, descrever o perfil inicial dos tabagistas no início do tratamento para abstinência, foram apresentados os valores medianos de todo o grupo e de homens e mulheres para a idade, IMC, CC e cigarros/dia categorizados e do NO. Compuseram o grupo de análise 29 homens e 57 mulheres.

Em relação à variável idade, o valor mediano encontrado para todo o grupo foi de 50 (20-76) anos. A idade mediana das mulheres foi de 51 (20-72) anos e para os homens 49 (21-76) anos. A análise categorizada da idade permitiu observar que a maioria dos participantes estava na faixa etária superior a 46 anos. A distribuição de frequência das categorias da idade é apresentada na tabela 1.



Tabela 1 – Distribuição da frequência da idade categorizada.

SEXO	CATEGORIAS	Frequência	Percentual	Percentual cumulativo
<b>Feminino</b>	20 A 45 ANOS	18	31,6	31,6
	≥ 46 ANOS	39	68,4	100,0
	Total	57	100,0	
<b>Masculino</b>	20 A 45 ANOS	10	34,5	34,5
	≥ 46 ANOS	19	65,5	100,0
	Total	29	100,0	
<b>Total de Participantes</b>	20 A 45 ANOS	28	32,6	32,6
	≥ 46 ANOS	58	67,4	100,0
	Total	86	100,0	

Fonte: a autora

Na análise do IMC, tanto homens quanto mulheres, também foram divididos em categorias de acordo com a classificação de análise dessa variável descrita na metodologia. Notou-se nessa análise a predominância de sobrepeso para as mulheres (35,1%), para os homens (37,9%), como também para todo o grupo (36%). A frequência das categorias de IMC é apresentada na tabela 2.

Tabela 2 – Frequência do IMC categorizado.

SEXO	CATEGORIAS (Kg/m <sup>2</sup> )	Frequência	Percentual	Percentual cumulativo
<b>Feminino</b>	EUTRÓFICO (18,5-24,9)	18	31,6	31,6
	SOBREPESO (25-29,9)	20	35,1	66,7
	OB1 (30-34,9)	11	19,3	86,0
	OB2 (35-39,9)	7	12,3	98,2
	OB3 (≥ 40)	1	1,8	100,0
	Total		57	100,0
<b>Masculino</b>	EUTRÓFICO (18,5-24,9)	5	17,2	17,2
	SOBREPESO (25-29,9)	11	37,9	55,2
	OB2 (35-39,9)	10	34,5	89,7
	OB3 (≥ 40)	3	10,3	100,0
	Total		29	100,0
<b>Total de Participantes</b>	EUTRÓFICO (18,5-24,9)	23	26,7	26,7
	SOBREPESO (25-29,9)	31	36,0	62,8
	OB1 (30-34,9)	21	24,4	87,2
	OB2 (35-39,9)	10	11,6	98,8
	OB3 (≥ 40)	1	1,2	100,0
	Total		86	100,0

Fonte: a autora.

Na análise da CC categorizada, verificou-se que do total das mulheres participantes do estudo, 17 (29,8%) apresentaram valores de CC até 80 cm e 39 (68,4%) apresentaram valores acima de 80,1 cm. Em relação aos homens, 17 (58,6%) apresentaram valores até 94,0 cm e somente 10 (34,5%) apresentaram valores superiores a 94,1 cm. É importante ressaltar que uma mulher (1,8%) e dois homens (6,9%) não realizaram a medição de CC. Percebeu-se, com base

nos valores descritos, que as mulheres apresentaram maior risco de doença cardiovascular do que os homens. Todos os dados são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Dados categorizados de CC para homens e mulheres.

<b>SEXO</b>		<b>CATEGORIAS</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual</b>	<b>Percentual Cumulativo</b>
<b>Feminino</b>	Válidos	ATÉ 80 cm	17	29,8	30,4
		≥ 80,1	39	68,4	100,0
		Total	56	98,2	
	Total		57	100,0	
<b>Masculino</b>	Válidos	ATÉ 94 cm	17	58,6	63,0
		≥ 94,1	10	34,5	100,0
		Total	27	93,1	
	Total		29	100,0	

Fonte: a autora.

Na análise da quantidade de cigarros/dia, os dados encontrados demonstraram que 24,5% das mulheres (n= 14) e 31% dos homens (n= 9), fumavam até 10 cigarros/dia. Foi percebido, também, que 50,9% das mulheres (n= 29) e 44,8% dos homens (n= 13) se enquadravam no nível 2 de categorização do estudo e que 24,6% das mulheres (n= 14) e 24,2% dos homens (n= 7) puderam ser qualificados no nível 3 de categorização. Esses valores sugerem que a maioria dos participantes da pesquisa, tanto homens, quanto mulheres, se enquadraram no nível 2 de categorização para cigarros/dia fumados. O mesmo resultado foi encontrado ao analisar o grupo com todos os participantes (n= 86). Os dados descritos acima são apresentados na tabela 4.

Tabela 4 – Categorização do número de cigarros/dia fumados.

<b>SEXO</b>		<b>CATEGORIAS</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual</b>	<b>Percentual Cumulativo</b>	
<b>Feminino</b>	1 A 10	Cigarros/dia	14	24,6	24,6	
		11 A 20	Cigarros/dia	29	50,9	75,4
		≥ 21	Cigarros/dia	14	24,6	100,0
	Total		57	100,0		
<b>Masculino</b>	1 A 10	Cigarros/dia	9	31,0	31,0	
		11 A 20	Cigarros/dia	13	44,8	75,9
		≥ 21	Cigarros/dia	7	24,1	100,0
	Total		29	100,0		
<b>Total de Participantes</b>	1 A 10	Cigarros/dia	23	26,7	26,7	
		11 A 20	Cigarros/dia	42	48,8	75,6
	≥ 21	Cigarros/dia	21	24,4	100,0	
Total		100	100,0			

Fonte: a autora.

Como os valores de NO encontrados se apresentaram muito dispersos (2,79 e 105,06  $\mu\text{mol/L}$ ), optou-se por dividir os dados em tercís (25, 50 e 75). Dessa forma, foi possível

identificar que no tercil 1 as mulheres (n= 19) apresentaram valor mediano de NO igual a 11,77  $\mu\text{mol/L}$ , enquanto que os homens (n= 9) apresentaram um valor mediano de NO de 11,69  $\mu\text{mol/L}$ . No tercil 2 as mulheres (n= 19) apresentaram valor de NO de 17,56  $\mu\text{mol/L}$  e os homens (n= 11) um valor de NO de 25,87  $\mu\text{mol/L}$ . Já para o tercil 3 a mediana de NO das mulheres (n= 19) foi de 32,01  $\mu\text{mol/L}$  e nos homens (n= 9) a mediana foi de 51,73  $\mu\text{mol/L}$ . Os valores mínimos e máximos encontrados no grupo das mulheres foi respectivamente, 2,79 e 105,06  $\mu\text{mol/L}$ . No grupo dos homens os valores foram, respectivamente, 3,55 e 86,83  $\mu\text{mol/L}$ .

Foi analisado, também, o valor geral de NO de todos os participantes da pesquisa (n= 86), seguindo o mesmo procedimento da análise das medianas entre mulheres e homens. Encontrou-se como resultado para o NO do grupo o valor mediano de 11,73  $\mu\text{mol/L}$  no tercil 1. No tercil 2, o valor mediano de NO foi de 19,2  $\mu\text{mol/L}$ . Já no tercil 3, o grupo apresentou um valor mediano de NO (40,96  $\mu\text{mol/L}$ ) superior ao da população. Todos os dados são apresentados na tabela 5.

Tabela 5 – Apresentação dos valores de NO para todo o grupo e para mulheres e homens.

	<b>Mulheres</b>	<b>Homens</b>	<b>Grupo</b>
<b>N</b>	57	29	86
<b>Mediana</b>	17,76	25,87	19,12
<b>Mínimo</b>	2,79	3,55	2,79
<b>Máximo</b>	105,06	86,83	105,06
<b>Tercil 1 (P 25)</b>	11,77	11,69	11,73
<b>Tercil 2 (P 50)</b>	17,76	25,87	19,12
<b>Tercil 3 (P 75)</b>	32,01	51,73	40,96

Fonte: a autora.

Ao analisar o nível de dependência tabágica dos indivíduos do estudo, tanto no total de sujeitos (61,6%) quanto por sexo (feminino = 64,9% e masculino = 55,2%), foi possível perceber uma predominância de alto grau de dependência tabágica, segundo a categorização de Fagerstrom, como demonstrado na tabela 6.

Tabela 6 – Categorização de Fagerstrom por sexo e para o total de sujeitos.

<b>Sexo</b>	<b>Pontuação</b>	<b>Frequência</b>	<b>Percentual</b>	<b>Percentual Cumulativo</b>
<b>Feminino</b>	Baixa (0 a 4 Pontos)	12	21,1	21,1
	Moderada (5 pontos)	8	14,0	35,1
	Alta (5 a 10 pontos)	37	64,9	100,0
	Total	57	100,0	
<b>Masculino</b>	Baixa (0 a 4 Pontos)	8	27,6	27,6
	Moderada (5 pontos)	5	17,2	44,8
	Alta (5 a 10 pontos)	16	55,2	100,0
	Total	29	100,0	
<b>Total de Participantes</b>	Baixa (0 a 4 Pontos)	20	23,0	23,3
	Moderada (5 pontos)	13	15,1	38,4
	Alta (5 a 10 pontos)	53	61,6	100,0
	Total	86	100,0	

Fonte: a autora.

### 7.5 Considerações finais do perfil dos tabagistas

Pôde-se observar que esse grupo apresentou homogeneidade nos valores de NO quando divididos em tercís, tanto para homens, quanto para as mulheres e para todo o grupo. Dentre os participantes, predominava o sexo feminino e que a média de idade tanto para o sexo feminino quanto para o masculino esteve acima de 46 anos e que a maioria apresentou sobrepeso e CC aumentados acima dos pontos de cortes para indivíduos saudáveis. Os participantes da pesquisa se mostraram com grau de dependência alto, segundo classificação de Fagerstrom, predominando o número de 11 a 20 cigarros fumados por dia.

## 8 ARTIGO 1

### CONCENTRAÇÃO SÉRICA DO ÓXIDO NÍTRICO (NO) EM TABAGISTAS E NÃO TABAGISTAS COM EXCESSO DE PESO

VAN KEULEN, H. V<sup>1</sup>; GOMES, A. S<sup>2</sup>; TOFFOLO, M. C. F<sup>1</sup>; OLIVEIRA, E. E<sup>3</sup>; SILVA, L. C<sup>3</sup>; DUTRA, S. C. P. L<sup>4</sup>; FERREIRA, A. P<sup>3</sup>; AGUIAR-NEMER, A. S<sup>4</sup>.

1. *Programa de Pós-graduação em Saúde Brasileira- Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora.*
2. *Programa de Pós-graduação em Saúde e Nutrição, Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto.*
3. *Laboratório de Terapia Celular e Imunologia Aplicada (IMUNOCET) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora.*
4. *Departamento de Nutrição, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora.*

#### RESUMO

**Introdução:** O óxido nítrico (NO) modula reações inflamatórias ou anti-inflamatórias, podendo ter efeitos benéficos ou tóxicos dependendo da concentração. Exposição crônica à nicotina induz à disfunção endotelial vascular, enquanto que excesso de peso promove a liberação de citocinas pró-inflamatórias, resultando na redução da síntese e biodisponibilidade de NO. **Objetivo:** Avaliar a concentração sérica de NO em mulheres tabagistas (GT) e não tabagistas (GNT) com excesso de peso. **Métodos:** Amostras de sangue de tabagistas (n=20) e não tabagistas (n=18), foram coletadas para obtenção do soro, e armazenadas a -80°C até análise. O NO foi avaliado através da dosagem de nitrito total, determinado pelo método de *Greiss*. Utilizou-se o teste t de *Student* para a comparação das médias de idade e da circunferência da cintura (CC) e o teste U-*Mann Whitney* para comparar as medianas das concentrações de nitrito (NO), do número de cigarros/dia e do Índice de Massa Corpórea (IMC). Adotou-se nível de significância  $p < 0,05$ . **Resultados:** A mediana de NO no GT foi de 16,53 (2,79 – 69,72)  $\mu\text{mol/L}$ , enquanto que no GNT foi de 10,85 (1,44 – 43,25)  $\mu\text{mol/L}$  ( $p=0,028$ ). O valor de IMC foi para GT e GNT, respectivamente, 29,50 (25,00 – 38,14)  $\text{Kg/m}^2$  e 30,68 (25,10 – 36,98)  $\text{Kg/m}^2$  ( $p=0,530$ ), sendo classificadas com sobrepeso. **Conclusão:** Os valores de NO encontrados para o GNT foram significativamente menores que os valores do GT. Apesar dessa diferença, ambos os grupos podem estar sofrendo diminuição de biodisponibilidade de NO, o que pode estar relacionado com o aumento de fatores de risco para doenças relacionadas com o tabagismo e com o sobrepeso.

**Palavras-chave:** Tabagismo. Óxido Nítrico. Excesso de peso. Inflamação. Adicção.

## ABSTRACT

**Introduction:** Nitric oxide (NO) modulates inflammatory or anti-inflammatory reactions which may have beneficial or toxic effects depending on the concentration. Chronic exposure to nicotine induces to vascular endothelial dysfunction while overweight promotes the release of pro-inflammatory cytokines, resulting in decreased synthesis and bioavailability. **Objective:** To evaluate the serum concentration of NO in female smokers (SG) and nonsmokers (NSG) who are overweight. **Methods:** Blood samples from smokers (n = 20) and nonsmokers (n = 18) were collected to obtain the serum, and stored at -80°C until analysis. NO was measured by the total dose of nitrite determined by the *Greiss* method. We used the *Student t* test for comparison of mean age and waist circumference (WC) and the *Mann Whitney U*-test to compare the median concentrations of nitrite (NO), the number of cigarettes/day and Body Mass Index (BMI). We adopted a significance level of  $p < 0.05$ . **Results:** The median of NO in SG was 16.53 (2.79 to 69.72)  $\mu\text{mol/L}$ , while in the NSG was 10.85 (1.44 to 43.25)  $\mu\text{mol/L}$  ( $p = 0.028$ ). The BMI value was for SG and NSG, respectively, 29.50 (25.00 to 38.14)  $\text{kg/m}^2$  and 30.68 (25.10 to 36.98)  $\text{kg/m}^2$  ( $p = 0.530$ ), and classed as overweight. **Conclusion:** The values of NO found for the GNT were significantly lower than the values of SG. Despite this difference, both groups may be suffering decrease in bioavailability, which may be associated with increased risk factors for diseases related to smoking and overweight.

**Keywords:** Smoking. Nitric Oxide. Overweight. Inflammation. Addiction.

## INTRODUÇÃO

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, gasoso, inorgânico que constitui um dos mais importantes mediadores de processos inflamatórios intra e extracelular. É produzido a partir da L-arginina por uma reação mediada pela classe de enzimas NO-sintase, podendo ser benéfico ou prejudicial ao organismo dependendo de sua concentração (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003; KESER *et al.*, 2013).

O NO está envolvido no relaxamento vascular tendo um papel de grande importância na proteção dos vasos sanguíneos e como modulador em diversos processos biológicos essenciais. O seu efeito se faz presente particularmente em situações de estresse oxidativo, geração de intermediários do oxigênio e deficiência do sistema antioxidante (KESER *et al.*, 2013; STEFFEN *et al.*, 2012). Certas substâncias podem alterar e potencializar os efeitos maléficos do NO, como a nicotina (GUVEN; TOLUN, 2012).

A nicotina estimula a liberação de catecolaminas, provocando lesões no endotélio arterial e promovendo a aterogênese. Além disso, a maior produção de radicais livres e compostos aromáticos do cigarro diminui a síntese de NO no endotélio, prejudicando o relaxamento das artérias, revelando um sinal precoce da disfunção endotelial. Os tabagistas apresentam alteração tanto no balanço vascular biológico como no tônus vascular, favorecendo

a vasoconstrição, a agregação plaquetária e propiciando a trombogênese (YUGAR-TOLEDO, 2000; BALAKUMAR; KAUR, 2009).

O tabagismo está relacionado a uma série de disfunções e também a doenças crônicas não transmissíveis, como hipertensão, cardiopatias, doenças respiratórias. Parar de fumar é uma estratégia importante para reduzir a morbidade e mortalidade ligadas a essas doenças tabaco-relacionadas (CHATKIN; CHATKIN, 2007). Associado à obesidade, o perfil metabólico do tabagista pode ainda agregar outros fatores de risco cardiovasculares como a dislipidemia e a resistência à insulina (LEE; KO; PARK, 2013).

Sabe-se que há uma relação inversa entre o uso de nicotina e o peso corporal. Segundo estudos, o índice de massa corporal (IMC) tende a ser menor em fumantes quando comparados a não fumantes, pois o uso dessa substância eleva o metabolismo basal e altera neurotransmissores cerebrais que contribuem para diminuição do apetite e, conseqüentemente, para menor ingestão energética (CHATKIN; CHATKIN, 2007). Entretanto, o estilo de vida de indivíduos tabagistas contribui para o desenvolvimento da obesidade por serem na maioria sedentários e apresentarem hábitos alimentares inadequados. O excesso de peso também é um fator determinante para manter o tabagismo e desestimula a procura de tratamento para parar de fumar (GESLAIN-BIQUEZ, 2003; GIL-LACRUZ; GIL-LACRUZ, 2012), além de ser fator adicional que pode alterar a síntese e ação do NO, bem como geração de perfil inflamatório (CODOÑER-FRANCH *et al.*, 2011).

Indivíduos do sexo feminino têm sido um dos focos de estudo devido a fatores associados com o desenvolvimento das doenças cardiovasculares (IGNACIO *et al.*, 2009). Durante o processo de envelhecimento, sofrem alterações no perfil metabólico resultando em modificações na composição e distribuição do tecido adiposo, favorecendo tanto o aumento ponderal, como também a progressão de processos ateroscleróticos (MUST *et al.*, 1999; CHEDRAUI *et al.*, 2012). Diversos estudos sugerem que as alterações hormonais femininas modulam a função das células endoteliais através de efeitos na produção ou atividade do NO. Por exemplo, o estradiol exerce efeito vasodilatador, agindo na estimulação da síntese do NO; há também a diminuição da progesterona que combinada com o estrogênio pode influenciar a atividade de NO (ABOU-MOHAMED *et al.*, 2003; FRIDMAN, 2004).

Nitritos e nitratos são os produtos finais estáveis da reação de NO com o oxigênio molecular. A dosagem do NO é complexa, portanto sua determinação indireta através da quantificação de nitrito é amplamente utilizada na caracterização de perfis inflamatórios (FLORA FILHO; ZLBERSTEIN, 2000).

Até o presente momento, não existem relatos suficientes sobre a concentração de NO ou seu metabólito em indivíduos fumantes e não fumantes com excesso de peso, havendo necessidade de mais estudos sobre o assunto a fim de entender melhor o estado inflamatório associado ao hábito tabágico. Dessa forma, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a concentração sérica de NO em mulheres tabagistas (GT) e mulheres não tabagistas (GNT) com excesso de peso. Considerando, como descrito anteriormente, a relação entre o tabagismo e o peso corporal, também foi objetivo do presente estudo, correlacionar a idade, o IMC, o número de cigarros/dia e a circunferência da cintura (CC) com o NO e, ainda, correlacionar o IMC com CC e com cigarros/dia e CC com cigarros/dia.

## **MÉTODO**

Este foi um estudo de delineamento transversal com uma amostra de conveniência no qual foram avaliadas 20 mulheres fumantes que iniciaram o tratamento para abstinência do Centro de Investigação e Intervenção em Tabagismo do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (CIPIT-HU/UFJF) e 18 mulheres não fumantes que iniciaram tratamento para perda de peso na Clínica de Nutrição ambulatorial/HU-UFJF. O estudo foi realizado com mulheres com sobrepeso e sedentárias, com idade entre 20 e 72 anos e que concordaram em participar.

Elas foram convidadas a assinar um termo de consentimento e, em seguida, foram incluídas neste estudo. As mulheres grávidas ou lactantes, cardiopatas graves, com doença hepática crônicas ou agudas, câncer, doenças neurológicas, psiquiátricas e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e doença renal não foram incluídas no estudo. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (Parecer: 566.857).

No primeiro encontro, foram coletadas a história clínica e medidas antropométricas de cada um dos fumantes e não fumantes por profissionais formados e estudantes que trabalham em ambos os ambulatórios. Foram coletadas informações sobre o tempo de tabagismo, idade de início do tabagismo e número de cigarros fumados por dia.

Foi feita no início do tratamento uma avaliação nutricional e antropométrica das fumantes e não fumantes. O peso corporal, a estatura e a CC foram medidos individualmente em uma sala reservada e foram utilizados protocolos padronizados (WHO, 1998). Para a medição do peso, foi utilizada uma balança digital eletrônica (marca Welmy®), sendo que o paciente foi avaliado descalço e com roupas leves. A estatura foi medida com um estadiômetro,



com o paciente em pé, descalço, com os braços estendidos ao lado do tronco e calcanhares juntos, erguendo a cabeça com os olhos fixos no horizonte, tocando a haste vertical do estadiômetro.

A interpretação dos resultados seguiu o ponto de corte  $CC \geq 80$  centímetros para mulheres, o que indica risco de doenças cardiovasculares se ultrapassar esse valor. Para avaliar o estado nutricional o IMC foi calculado pela fórmula:  $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura (m}^2\text{)}$ . A classificação foi realizada conforme proposto pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1998).

As amostras de sangue foram coletadas após 12 a 14h de jejum durante a noite e centrifugadas dentro de 30 a 45 minutos da recolha e armazenadas a  $-80^\circ\text{C}$  até à análise. Esses testes foram realizados no Centro de Tecnologia Celular e Imunologia Aplicada (IMUNOCET) do Instituto de Ciências Biológicas / UFJF. Utilizou-se o método de *Griess* para a determinação de soro de NO, uma vez que este é o método mais utilizado em estudos experimentais e clínicos (KESER *et al.*, 2013; CODOÑER-FRANCH *et al.*, 2011).

A concentração de NO (indiretamente determinada pela dosagem de nitrito) foi avaliada pelo método de *Griess*. O excesso de proteínas foi removido por precipitação em ácido/sal. Para realização do teste, 100 $\mu\text{L}$  dos soros foram transferidos para placas de 96 poços, posteriormente foi acrescentado igual volume de reagente de Griess (1% de sulfanilamida, 0,1% de N-(1-naftil)-etileno diamina hidrocloreto, 5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , Sigma, St. Louis, MO, USA). A concentração de NO foi determinada por comparação com uma solução padrão de nitrito de sódio.

### **Análise estatística**

Inicialmente foram testados os pressupostos de homogeneidade das variâncias e de normalidade. Foi adotado como critério o nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). Todos os dados foram analisados com o pacote estatístico PASW 18.0.

Para a comparação das médias de idade e CC entre os grupos, foi utilizado o teste t de *Student*. Para a comparação entre as variáveis, cigarros/dia, IMC e NO entre os grupos, foi utilizado o teste *U de Mann-Whitney*. A análise de correlação, entre os grupos, entre IMC, CC e NO foi realizada através do teste de *Spearman*.

### **RESULTADOS**

Participaram do estudo 38 mulheres (tabagistas=20 e não tabagistas=18). A média de idade das participantes foi de  $47,63 \pm 11,33$  anos. O GT apresentou idade média de  $52,15 \pm$

8,58 anos e o GNT apresentou média de  $42,61 \pm 12,11$  anos. O valor mediano de NO do total de participantes foi de 11,36 (1,44 – 69,72)  $\mu\text{mol/L}$ , enquanto que no GT foi de 16,53 (2,79 – 69,72)  $\mu\text{mol/L}$ , e no GNT foi 10,85 (1,44 – 43,25)  $\mu\text{mol/L}$ . É importante destacar que os grupos se apresentaram homogêneos em relação às variáveis analisadas.

Na análise descritiva dos cigarros fumados pelo GT, encontrou-se mediana de 20 (5 – 40) cigarros/dia. Quanto aos valores de IMC, o total de mulheres apresentou mediana de 29,98 (25 – 38,14)  $\text{Kg/m}^2$ . O GT apresentou valor mediano de 29,50 (25 – 38,14)  $\text{Kg/m}^2$  e o GNT apresentou valor mediano de 30,68 (25,10 – 36,98)  $\text{Kg/m}^2$ . Ao analisar os dados referentes a CC, encontrou-se média de  $91,23 \pm 12,29$  cm para o total de participantes, sendo que a média do GT foi de  $91,48 \pm 12,76$  cm, e do GNT foi de  $90,97 \pm 12,11$  cm. Todos os valores descritivos são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Dados descritivos da idade, CC, NO, IMC e quantidade de cigarros/dia do total de sujeitos e dos grupos GT e GNT.

VARIÁVEIS	TOTAL DE SUJEITOS	GT	GNT
	(n=38)	(n= 20)	(n= 18)
	Média $\pm$ Desvio Padrão	Média $\pm$ Desvio Padrão	Média $\pm$ Desvio Padrão
<b>Idade (anos)</b>	47,63 $\pm$ 11,33	52,15 $\pm$ 8,58	42,61 $\pm$ 12,11
<b>CC (cm)</b>	91,23 $\pm$ 12,29	91,48 $\pm$ 12,76	90,97 $\pm$ 12,11
	Mediana (Mínimo-Máximo)	Mediana (Mínimo-Máximo)	Mediana (Mínimo-Máximo)
<b>NO (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	11,36 (1,44 – 69,72)	16,53 (2,79 – 69,72)	10,85 (1,44 – 43,25)
<b>IMC (<math>\text{Kg/m}^2</math>)</b>	29,98 (25 – 38,14)	29,50 (25 – 38,14)	30,68 (25,10 – 36,98)
<b>Cigarros/dia</b>	-----	20 (5 – 40)	-----

Fonte: a autora.

Ao comparar as variáveis do estudo entre os grupos, verificou-se a existência de diferença estatística entre a idade média dos grupos (GT=  $52,15 \pm 8,58$  anos; GNT=  $42,61 \pm 12,11$  anos;  $p= 0,000$ ). Na análise comparativa dos valores de CC, também foi encontrada diferença estatística significativa entre os grupos (GT=  $91,48 \pm 12,76$  cm; GNT=  $90,97 \pm 12,11$  cm;  $p= 0,000$ ). Na comparação dos valores de NO, o GT e o GNT também apresentaram diferença estatística significativa (GT= 16,53 (2,79 – 69,72)  $\mu\text{mol/L}$ ; GNT= 10,85 (1,44 – 43,25)  $\mu\text{mol/L}$ ;  $p= 0,028$ ). Não foi encontrada diferença significativa na comparação das medianas de IMC entre o GT e o GNT (29,50  $\text{Kg/m}^2$  e 30,68  $\text{kg/m}^2$ ;  $p=0,530$ ), confirmando, ainda, o excesso de peso nos dois grupos. Todos os dados comparativos são apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Comparação entre as médias de idade e CC e entre as medianas de NO e IMC entre os grupos GT e GNT.

	GT		GNT		P
	N	Média ± Desvio Padrão	N	Média ± Desvio Padrão	
IDADE (anos)	20	52,15 ± 8,58	18	42,61 ± 12,11	0,000*
CC (cm)	20	91,48 ± 12,76	18	90,97 ± 12,11	0,000*
		Mediana (Mínimo - Máximo)		Mediana (Mínimo - Máximo)	
NO (µmol/L)	20	16,53 (2,79 – 69,72)	18	10,85 (1,44 – 43,25)	0,028*
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	20	29,50 (20 - 37)	18	28,00 (22 - 34)	0,530

IMC - Índice de Massa Corpórea; NO – Metabólitos do Óxido Nítrico; CC – circunferência da cintura.

\* p < 0,05. Comparação grupos tabagistas x não tabagistas.

Foram realizadas análises correlacionais da idade, do IMC, do número de cigarros/dia e da CC com o NO e, ainda, entre o IMC e CC, entre o IMC e cigarros/dia, e entre CC e cigarros/dia entre os dois grupos. Na análise de correlação entre o NO e a CC foi encontrada correlação positiva e estatisticamente significativa no GT ( $r = 0,540$ ;  $p = 0,014$ ), enquanto que no GNT não foi encontrada relação ( $r = -0,172$ ;  $p = 0,494$ ).

Nas análises correlacionais entre NO e IMC, NO e cigarros/dia no GT, e NO e idade não foram encontradas correlações estatisticamente significativas nos dois grupos. Também não foi encontrada correlação significativa entre IMC e cigarros/dia e entre CC e cigarros/dia. E, ao analisar a correlação entre IMC e CC, percebeu-se uma correlação positiva e significativa no GT ( $r = 0,633$ ;  $p = 0,005$ ). Todos os dados de correlação são apresentados na tabela 3.

Tabela 3- Correlação entre idade, IMC, CC, cigarros/dia e NO entre os grupos GT e GNT.

Variáveis de Correlação	GT		GNT	
	r	p	r	p
NO - IMC	0,260	0,269	-0,053	0,835
NO - Cigarros/dia	0,182	0,441	-	-
NO - Idade	-0,130	0,584	0,022	0,932
NO - CC	0,540	0,014*	-0,172	0,494
IMC - Cigarros/dia	-0,310	0,184	-	-
IMC - CC	0,119	0,616	0,633	0,005**
CC - Cigarros/dia	0,085	0,723	-	-

Fonte: a autora.

IMC - Índice de Massa Corpórea; NO – Metabólitos do Óxido Nítrico;

CC – circunferência da cintura

\* p < 0,005.

\*\* p < 0,001.

## DISCUSSÃO

O presente estudo identificou que houve diferença significativa na concentração de NO em mulheres tabagistas e não tabagistas, ambas com excesso de peso. Notou-se que 100% das

mulheres não tabagistas e tabagistas apresentaram valores de NO abaixo do valor de 24,4  $\mu\text{mol/L}$  encontrado por Ghasemi *et al.* (2008) em um estudo de base populacional com mulheres saudáveis. Como demonstrado em estudos anteriores (RYTILÄ *et al.*, 2006; VARGAS *et al.*, 2013), esses valores podem estar relacionados a um risco potencial para o desenvolvimento de uma inflamação crônica de baixo grau, culminando em alterações vasculares devido ao excesso de adiposidade corporal, e que podem ser agravadas pelo tabagismo, fator conhecido envolvido nesses distúrbios em diferentes condições clínicas.

No estudo de EID *et al.* (2004) em que se avaliou a concentração sérica do NO endógeno em indivíduos obesos e tabagistas, foi encontrada concentração média de NO de 26,1  $\mu\text{mol/L}$ , enquanto que o valor mediano encontrado no presente estudo do grupo das tabagistas com sobrepeso foi de 16,53  $\mu\text{mol/L}$ . Os autores alertam que o excesso de peso e o tabagismo afetam a concentração sérica de NO podendo potencializar a disfunção endotelial, colaborando com o agravamento do processo inflamatório. Relatam ainda que IMC elevado combinado com o tabagismo pode ser determinante para distúrbios metabólicos contribuindo para doenças ateroscleróticas, resistência à insulina e diabetes. Entretanto, no referido estudo de EID *et al.* (2004), não foram relatados resultados de indivíduos apenas obesos.

No presente estudo, foram comparados indivíduos com excesso de peso, tabagistas e não tabagistas e, diferente do esperado, o valor médio encontrado na concentração sérica de NO de mulheres não tabagistas com excesso de peso (10,85  $\mu\text{mol/L}$ ) foi 35,36% menor que o encontrado no grupo das tabagistas (16,53  $\mu\text{mol/L}$ ). A diferença significativa ( $p=0,028$ ) encontrada nos valores de NO entre os grupos corrobora a ideia de que as tabagistas com excesso de peso parecem ter uma produção maior de óxido nítrico que as não tabagistas, o que pode ser um efeito da nicotina já que esta parece aumentar os níveis de leptina, que é conhecida por estimular a produção de óxido nítrico (RODRÍGUEZ *et al.*, 2007).

O valor mediano de NO (16,53  $\mu\text{mol/L}$ ) encontrado no GT foi superior ao encontrado no GNT (10,85  $\mu\text{mol/L}$ ), podendo essa diferença estar relacionada à média de idade do GT (52,1 anos). Esse achado encontra suporte nos estudos de Ghasemi *et al.* (2008) e Ghasemi, Zahedias e Azizi (2010), que demonstraram uma relação significativa entre idade e nível sérico de NO. Nesse estudo, os autores correlacionaram a concentração sérica de NO com a idade em 5 categorias (20-29, 30-39, 40-49, 50-59,  $\geq$  de 60 anos) e perceberam que, a partir dos 50 anos, as mulheres apresentavam níveis séricos de NO mais elevados. Também foi relatada uma possível relação com o período de climatério e/ou menopausa (GHASEMI *et al.*, 2008; WATANABE *et al.*, 2000).

O NO, apesar de ser altamente tóxico, possui características benéficas ao organismo. Essa molécula faz parte do primeiro arsenal do mecanismo de defesa atuando como antibactericida, antiparasídico e antiviral contra micro-organismos invasores. O NO no sistema cardiovascular é responsável pela manutenção do fluxo sanguíneo e controle do extravasamento tecidual, como também, no sistema bronco-pulmonar, pela homeostase das vias aéreas mantendo o calibre brônquico e equilibrando a relação ventilação/perfusão (FLORA FILHO; ZLBERSTEIN, 2000). Kato *et al.* (2006) relataram a redução das concentrações plasmáticas de NO em tabagistas associadas ao hábito de fumar conforme aumento da concentração no ar exalado de monóxido de carbono (COex) e que, em indivíduos com maior peso, a redução de NO pode estar mais presente. Em nosso estudo, não houve associação entre número de cigarros/dia e de NO.

Todaa e Todab (2010) alertam que não só o fumante ativo mas também o passivo está sujeito aos efeitos maléficos da nicotina e que, ao longo do tempo, pode enfrentar doenças graves resultando em maior morbimortalidade tanto de tabagistas quanto de tabagistas passivos. Para tanto, torna-se importante segundo Liu *et al.* (2012), a dosagem de níveis séricos de NO na avaliação clínica geral de indivíduos tabagistas, não devendo ser menos importante que avaliar o perfil do fumante, seu grau de dependência à nicotina e sua motivação para deixar de fumar (REICHERT *et al.*, 2008). Entretanto, essa dosagem poderia ser prioridade também para indivíduos fumantes passivos, pois o contato diário e intermitente com a fumaça do cigarro faria com que suas vias de estresse oxidativo estivessem alteradas.

O excesso de peso e estado tabágico presentes nas mulheres envolvidas neste estudo podem ter contribuído para a redução dos valores de nitritos encontrados. Esses fatores aumentam a produção de radicais livres, diminuem a biodisponibilidade de NO e potencializam o estado inflamatório. O tabagismo está associado a mecanismos tóxicos diretos da nicotina, acelera e agrava a aterosclerose e aumenta o risco de doenças arteriais coronárias (YUGAR-TOLEDO, 2000). O sobrepeso induz ao processo inflamatório gerado pelo sedentarismo e hábitos alimentares ruins, acarretando o desequilíbrio da glicemia, alterando o metabolismo das lipoproteínas, diminuindo a concentração de HDL, aumentando LDL e colesterol total (GOMES *et al.*, 2010).

Isso fortalece a premissa de que o tabagismo e o excesso de peso são importantes fatores associados a alterações no balanço oxidante e antioxidante, pró-inflamatório e anti-inflamatório, resultando em efeitos maléficos a saúde, em especial quando combinados a outros fatores, como idade, sedentarismo, cigarros/dia, fase pré e/ou pós-menopausa, que são

agravantes para esses dois grupos (EID *et al.*, 2004; GHASEMI; ZAHEDIAS; AZIZI, 2010; SANTOS *et al.*, 2006).

Foi verificado ainda que os valores de IMC e CC confirmam, além do excesso de peso, que a gordura corporal dessas mulheres encontra-se distribuída com perfil androide. E, ainda, que a média de idade dessas mulheres corresponde ao período de climatério, menopausa e pós-menopausa tendendo a aumentar o fator de risco para doenças coronarianas. Dados semelhantes foram encontrados por Domenico *et al.* (2008) numa revisão de literatura. Foram analisados vários estudos que apresentaram dados demonstrando que mulheres na fase de menopausa tinham aumento do IMC, além de mudanças no padrão de distribuição de gordura corporal, o que acentuava a circunferência da cintura. Contudo, acredita-se que a redução de peso corporal induzida por uma dieta equilibrada, hábitos saudáveis e atividade física podem reverter a disfunção endotelial diminuindo o processo pró-inflamatório melhorando, assim, a produção de NO (DOMENICO *et al.*, 2008; HEITZER *et al.*, 2000).

Os resultados deste estudo devem ser interpretados em relação a seus pontos fortes e limitações. O delineamento da pesquisa foi um estudo transversal, podendo avaliar uma exposição dos dados em um determinado momento, e não determinar as relações causais. Além disso, o pequeno número amostral dos grupos (GT e GNT) pode ter contribuído para não terem sido encontradas diferenças significativas em alguns resultados. Outros trabalhos com maior casuística devem ser realizados para testar essa relação negativa quanto à saúde do tabagista com o excesso de peso. Outra limitação foi que neste estudo não foi levada em consideração a quantificação do COex tanto para tabagistas quanto para não tabagistas a fim de classificar o status tabágico e se havia fumantes passivos entre o grupo controle.

Apesar de algumas limitações, os resultados fornecem evidências de que o tabagismo associado ao excesso de peso influencia nas concentrações de óxido nítrico no sexo feminino. Além disso, o presente estudo vem acrescentar à literatura o alerta para o prejuízo causado pelo tabagismo, combinado com a obesidade, à saúde, uma vez que são poucos os estudos encontrados na literatura relacionando mulheres fumantes e o excesso de peso. Acredita-se que o aprofundamento de uma avaliação clínica mais completa para os indivíduos que decidem parar de fumar e perder peso saudavelmente aumenta a expectativa de uma melhora no quadro clínico geral, revertendo danos causados pelo fumo e diminuindo os riscos para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis.

## CONCLUSÃO

Os valores de NO encontrados para o GNT foram significativamente menores que os valores do GT. Apesar dessa diferença, ambos os grupos podem estar sofrendo diminuição de biodisponibilidade de NO, o que pode estar relacionado com o aumento de fatores de risco para doenças relacionadas com o tabagismo e com o sobrepeso. Os valores de IMC e CC encontrados corroboram os prováveis danos ao organismo e se nenhuma medida interventiva for realizada, esses danos se agravarão ao longo do tempo. Portanto, parece que a associação do tabagismo com o sobrepeso interfere nos níveis finais de nitrito.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Imunologia da UFJF- IMUNOCET; às bolsistas: Fernanda Soares, Laíta Babio e Marília Câmara por auxiliar na coleta dos dados; ao HU-UFJF; a equipe CIPITI-HU/UFJF; a Residência Multiprofissional em Saúde do Adulto/ HU-UFJF e a Carmen do Laboratório de Análises Clínicas do HU/UFJF. Agradecemos em especial ao CNPq e a FAPEMIG.

## REFERÊNCIAS

- ABOU-MOHAMED, G. et al. Estradiol relaxes rat aorta via endothelium-dependent and – independent mechanism. **Pharmacology**. v. 69, n., p. 20-26, 2003.
- BALAKUMAR, P.; KAUR, J. Is nicotine a key player or spectator in the induction and progression of cardiovascular disorders? **Pharmacological Research**. v. 60, n. 5, p. 361–368, 2009.
- CHATKIN, R.; CHATKIN, J. M. Tabagismo e variação ponderal: a fisiopatologia e genética podem explicar esta associação? **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 33, n. 6, p. 712-719, 2007.
- CHEDRAUI, P. et al. Nitric oxide and pro-inflammatory cytokine serum levels in postmenopausal women with the metabolic syndrome. **Gynecological Endocrinology**. v. 28, n. 10, p. 787-791, 2012.
- CODOÑER-FRANCH, P. et al. Nitric oxide production is increased in severely obese children and related to markers of oxidative stress and inflammation. **Atherosclerosis**. v. 215, n. 2, p. 475-480, 2011.

DOMENICO, D. et al. Correlação entre obesidade e menopausa. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**. v. 2, n. 9, p. 279-287, 2008.

DUSSE, L. M.; VIEIRA, L.; CARVALHO, M. G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 39, n. 4, p. 343-350, 2003.

EID, H. M. A. et al. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. **Metabolism**. v. 53, n. 12, p. 1574–1579, 2004.

FLORA FILHO, R.; ZLBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade, metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.

FRIDMAN, F. Z. **Níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico em gestantes nulíparas normais e com síndrome de pré-eclâmpsia**. Dissertação (Mestrado). Porto Alegre: PUCRS, 2004.

GESLAIN-BIQUEZ, C. et al. Study Group. **The metabolic syndrome in smokers**. The D.E.S.I.R. study. **Diabetes & Metabolism**. v. 9, p. 226-234, 2003.

GHASEMI, A. et al. Serum nitric oxide metabolite levels in a general healthy population: relation to sex and age. **Life Sciences**. v. 83, p. 326-331, 2008.

GHASEMI, A.; ZAHEDIAS, S.; AZIZI, F. Reference values for serum nitric oxide metabolites in an adult population. **Clinical Biochemistry**. v. 43, p. 89-94, 2010.

GIL-LACRUZ, A.I.; GIL-LACRUZ, M. The role of risk propensity in smokers and overweight people. **Revista de Psiquiatria y Salud Mental (Barcelona)**. v. 5, p. 139-149, 2012.

GOMES, F. et al. Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. v. 94, n. 2, p. 274-279, 2010.

GUVEN, A.; TOLUN, F. Effects of smokeless tobacco “maras powder” use on nitric oxide and cardiovascular risk parameters. **International Journal of Medicine Sciences**. v. 9, n. 9, p. 786-792, 2012.

HEITZER, T. et al. Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation in chronic smokers: evidence for a dysfunctional nitric oxide synthase. **Circulation Research**. v. 86, n. 2, p. 36-41, 2000.

IGNACIO, D. L. et al. Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**. v. 53, n. 3, p. 310-317, 2009.

KATO, T. et al. Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in nonsmokers. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 84, n. 5, p. 523-529, 2006.



KESER, A. et al. Brain nitric oxide metabolites in rats preselected for nicotine preference and intake. **Neuroscience Letters**. v. 545, p. 102– 106, 2013.

LEE, J. Y.; KO, Y. J.; PARK, S. M. Factors associated with current smoking and heavy alcohol consumption among women of reproductive age: the Fourth Korean. National Health and Nutrition Examination Survey 2007 - 2009. **Public Health**. v. 127, p. 473 – 481, 2013.

LIU, J. et al. Regulation of nitric oxide by cigarette smoke in airway cells. **Open Journal of Respiratory Diseases**. v. 2, p. 9 – 16, 2012.

MUST, A. et al. The disease burden associated with overweight and obesity. **JAMA**. v. 282, p. 16, p. 1523-1529, 1999.

REICHERT, J. et al. **Diretrizes para cessação do tabagismo**. Smoking cessation guidelines. 2008.

RODRÍGUEZ, A. et al. The inhibitory effect of leptin on angiotensin II-induced vasoconstriction in vascular smooth muscle cells is mediated via a nitric oxide-dependent mechanism. **Endocrinology**. v. 148, n. 1, p. 324-31, 2007.

RYTILÄ, P. et al. Increased oxidative stress in asymptomatic current chronic smokers and GOLD stage 0 COPD. **Respiratory Research**. v. 7, p. 69, 2006.

SANTOS, C. et al. Fatores dietéticos na prevenção e tratamento de comorbidades associadas à síndrome metabólica. **Revista de Nutrição**. v. 19, n. 3, p. 389-401, 2006.

STEFFEN Y. et al. Cigarette smoke and LDL cooperate in reducing nitric oxide bioavailability in endothelial cells via effects on both NOS and NADPH oxidase. **Nitric Oxide**. v. 27, n. 3, p. 176–184, 2012.

TODAA, N.; TODAB, H. Nitric oxide-mediated blood flow regulation as affected by smoking and nicotine. **European Journal of Pharmacology**. v. 649, p. 1-13, 2010.

VARGAS, H. O. et al. Oxidative stress and inflammatory markers are associated with depression and nicotine dependence. **Neuroscience Letters**. v. 544, p. 136-140, 2013.

WATANABE, T. et al. Influence of sex and age on serum nitrite/nitrate concentration in healthy subjects. **Clinica Chimica Acta**. v. 301, n. 1–2, p. 169–179, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Report of a WHO Consultation. Geneva, World Health Organization 1998. Technical Report Series, 894.

YUGAR, T. J. **Estudo comparativo da reatividade vascular em tabagistas, diabéticos e hipertensos**. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

## 9 ARTIGO 2

### COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DO ÓXIDO NÍTRICO (NO) E DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM TABAGISTAS NO INÍCIO E APÓS 4 MESES DE TRATAMENTO PARA CESSAÇÃO TABÁGICA

VAN KEULEN, H. V<sup>1</sup>; GOMES, A. S<sup>2</sup>; TOFFOLO, M. C. F<sup>1</sup>; OLIVEIRA, E. E<sup>3</sup>; SILVA, L. C<sup>3</sup>; ALMEIDA, C. S<sup>3</sup>; FERREIRA, A. P<sup>3</sup>; AGUIAR-NEMER, A. S<sup>4</sup>.

1. *Programa de Pós-graduação em Saúde Brasileira- Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora.*
2. *Programa de Pós-graduação em Saúde e Nutrição, Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto.*
3. *Laboratório de Terapia Celular e Imunologia Aplicada (IMUNOCET) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora.*
4. *Departamento de Nutrição, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora.*

## RESUMO

**Introdução:** O óxido nítrico (NO) modula reações inflamatórias ou anti-inflamatórias tendo efeitos benéficos ou tóxicos dependendo da concentração. Sua elevação pode acarretar efeitos pró-inflamatórios amplificando o processo inflamatório com a participação das citocinas. O tabagismo gera um impacto negativo à saúde, sendo considerado um dos fatores de risco modificáveis de doenças cardiovasculares, disfunção vasomotora; altera o perfil lipídico, a resistência à insulina, além de facilitar processos inflamatórios. **Objetivo:** Comparar a concentração sérica de NO em tabagistas no início e após 4 meses de tratamento para abstinência tabágica, e correlacionar o NO com marcadores inflamatórios. **Métodos:** As amostras de sangue foram coletadas para obtenção do soro, no início e após 4 meses, sendo armazenadas a -80°C até a análise. O NO foi avaliado através da dosagem de nitrito total, determinado pelo método de *Greiss*. Foi utilizada a técnica de CBA para determinar a concentração das citocinas nos sobrenadantes de soros. Compararam-se os resultados iniciais e finais do NO (30 sujeitos), IL-8, IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  (15 sujeitos), IL-10 e IL-12 (16 sujeitos) e índice HOMA-IR (23 sujeitos) que permaneceram no tratamento após 4 meses. Utilizou-se o teste *Wilcoxon* para a comparação dos dados e o teste de *Spearman* para as correlações entre NO e as demais variáveis. Adotou-se nível de significância  $p < 0,05$ . **Resultados:** Na análise do NO, foi observada uma redução significativa ( $p = 0,001$ ) do valor mediano inicial de 18,80 (3,55 – 80,01)  $\mu\text{mol/L}$  para 8,10 (2,85 – 14,97)  $\mu\text{mol/L}$  após 4 meses de tratamento. Na comparação entre os dados do NO no início e no final do tratamento, os participantes que não conseguiram se manter abstinentes ( $9,18 \pm 3,85 \mu\text{mol/L}$ ) e os abstinentes ( $7,58 \pm 3,03 \mu\text{mol/L}$ ) não apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,304$ ). Ainda considerando o status tabágico após 4 meses de tratamento (abstinente x fumante), não foram encontradas diferenças estatísticas dos valores das citocinas analisadas. **Conclusão:** Os resultados encontrados podem não significar prejuízos para o organismo e sim um processo adaptativo, diminuindo o metabolismo dos abstinentes em função da redução do uso da nicotina.

**Palavras-chave:** Tabagismo. Óxido Nítrico. Citocinas. Cessação Tabágica. Marcadores Inflamatórios.

## ABSTRACT

**Introduction:** Nitric oxide (NO) modulates inflammatory or anti-inflammatory reactions, with beneficial or toxic effects depending on the concentration. Its change can cause proinflammatory effects amplifying the inflammatory process with the participation of cytokines. Smoking has a negative impact on health and is considered one of the modifiable risk factors of cardiovascular disease, vasomotor dysfunction. It changes the lipid profile, insulin resistance, and facilitates inflammatory processes. **Aim:** To compare the serum concentration of NO in smokers at baseline and after 4 months of treatment for smoking cessation, and correlate with inflammatory markers NO. **Methods:** Blood samples were collected to obtain the serum at the beginning and after 4 months, and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. NO was measured by the total dose of nitrite determined by the *Greiss* method. CBA was used technique for determining the concentration of cytokines in supernatants serum. We compared the initial and final results of NO (30 subjects), IL-8, IL-1, IL-6 and TNF- $\alpha$  (15 subjects), IL-10 and IL-12 (16 subjects) and HOMA-IR index (23 subjects) who remained after 4 months treatment. The *Wilcoxon* test was used to compare the data and the *Spearman* test for correlations between NO and the other variables. We adopted a significance level of  $p < 0.05$ . **Results:** Analysis of NO, there was a significant reduction ( $p = 0.001$ ) of the initial median value of  $18.80$  ( $3.55$  to  $80.01$ )  $\mu\text{mol/L}$  to  $8.10$  ( $2.85$  to  $14.97$ )  $\mu\text{mol/L}$  after 4 months of treatment. Comparing the data of NO at the beginning and end of treatment, participants who failed to keep abstinent ( $9.18 \pm 3.85$   $\mu\text{mol/L}$ ) and abstinent ( $7.58 \pm 3.03$   $\mu\text{mol/L}$ ) do not show statistical significant difference ( $p = 0.304$ ). Still considering the smoking status after 4 months of treatment (abstinent x smokers), there were no statistical differences of the values of the analyzed cytokines. **Conclusion:** The results may not mean damage to the organism, but an adaptive process, decreasing the metabolism of abstinent due to reduction in the use of nicotine.

**Keywords:** Smoking, nitric oxide, cytokines, Smoking Cessation, inflammatory markers.

## INTRODUÇÃO

O óxido nítrico (NO) é caracterizado por uma molécula gasosa com uma meia-vida curta *in vivo*, provavelmente menor do que 0,1s (KELM; SCHRADER, 1990) e desempenha efeitos variados nos sistemas biológicos como vasodilatação, neurotransmissão, reprodução e, ainda, morte celular programada (GHASEMI, 2008). O NO é sintetizado a partir de L-arginina por, pelo menos, três isoformas de sua sintase (ROMITELLI *et al.*, 2007), a óxido nítrico sintase neuronal (nNOS), a óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e uma isoforma induzível (iNOS), sendo envolvido tanto em respostas fisiológicas quanto patológicas (ELABRAS FILHO *et al.*, 2011).

O NO possui efeitos colaterais que podem ser benéficos em situações de lesão endotelial difusa, como a inibição da agregação e adesão plaquetária, efeitos anti-inflamatórios relacionados com a diminuição de ativação de neutrófilos e de liberação de citocinas (LEITE-MOREIRA, 1999). Porém, sua elevação de função pode acarretar efeitos pró-inflamatórios sinalizando e amplificando o processo inflamatório com a participação das citocinas (OLIVEIRA *et al.*, 2011; STEFFEN *et al.*, 2012).

Dentre as citocinas pró-inflamatórias, destacam-se o fator de necrose tumoral-alpha (TNF- $\alpha$ ) e as interleucinas IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, enquanto as anti-inflamatórias atuam com as interleucinas IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, entre outras. Juntas mantêm o equilíbrio da resposta immune (KUNZ *et al.*, 2011).

Entretanto, sabe-se que fatores de risco cardiovascular, como obesidade, hipercolesterolemia, hipertensão e exposição prolongada a fatores nocivos, como a fumaça do cigarro, induzem a uma resposta inflamatória sustentada, podendo acarretar aumento da suscetibilidade a infecções e até mesmo diminuição da biodisponibilidade de fatores derivados do endotélio, desencadeando a disfunção endotelial e causando respostas vasomotoras anormais (STEFFEN *et al.*, 2012).

O tabagismo acelera e agrava a aterosclerose e aumenta o risco de doenças arteriais coronárias e Steptoe e Ussher (2006) alertam sobre a alteração das funções endócrinas que o fumo pode causar. Descrevem, ainda, que o tabagismo contribui para um impacto negativo à saúde, pois, além de ser considerado um dos principais fatores de risco modificáveis de doenças cardiovasculares, estimula a disfunção vasomotora, pode alterar o perfil lipídico, desencadear resistência à insulina e facilitar processos cancerígenos.

Durante um estudo feito com fumantes e não fumantes, a resposta insulínica, após uma carga oral de glucose, foi mais pronunciada em fumantes, demonstrando que fumar pode aumentar diretamente a resistência à insulina (CHIORELLO *et al.*, 2008; FACCHINI *et al.*, 1992). Corroborando esse estudo, Steptoe e Ussher (2006) relataram que uma das consequências do tabagismo é o desequilíbrio hormonal em mulheres. Em primeiro lugar, há um acúmulo de gordura central e, em seguida, a resistência à insulina. Essa condição pode induzir a uma importante ligação entre o consumo de cigarros e o risco de doenças cardiovasculares (CHIORELLO *et al.*, 2008; ELIASSON *et al.*, 1994).

Através da exposição crônica à nicotina, estudos alertam que o tabagismo está associado à hipertensão e agregação de plaquetas, podendo ambos ser causados pelo aumento da formação endógena de NO com consequente vasoconstrição, estímulo a adesão de leucócitos no endotélio e subsequente aterosclerose (DAS *et al.*, 2014; MANZANO, 2010). Contudo, a dependência

do tabaco tem sido cada vez mais reconhecida como uma condição crônica e que o processo do tratamento para a sua abstinência é de grande importância para uma qualidade de vida melhor dos seus adictos, porém, pode necessitar de repetidas intervenções (DIEL *et al.*, 2011).

É fundamental, portanto, o aconselhamento dos profissionais para o processo de intervenção isolada ou em grupo, associada ao tratamento farmacológico (REICHERT *et al.*, 2008), pois dados apontam que apenas 33% das pessoas que deixam de fumar sozinhas permanecem abstinentes por período superior a 2 dias e que menos de 5% mantêm-se abstinentes por mais de 1 ano (DIEL *et al.*, 2011).

Com isso, o objetivo deste estudo de intervenção foi comparar os níveis dos metabólitos do NO e de marcadores inflamatórios em tabagistas no início e após 4 meses de tratamento para cessação tabágica. O presente estudo objetivou, também, correlacionar os níveis de metabólitos de NO com os marcadores inflamatórios.

## **MÉTODO**

Trata-se de um estudo de intervenção com uma amostra de conveniência no qual foram avaliados 30 fumantes que iniciaram o tratamento para abstinência e se mantiveram no projeto até o final do processo interventivo (4 meses). Todos os participantes foram recrutados no Centro de Investigação e Intervenção em Tabagismo do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (CIPIT-HU/UFJF). O grupo de intervenção foi composto por indivíduos de ambos os sexos com idade entre 30 e 72 anos apresentando uma média de 52,4 anos  $\pm$  10,59.

Inicialmente todos os participantes foram convidados a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido e, em seguida, foram incluídos no estudo. Aqueles sujeitos que se apresentaram cardiopatas graves, com doença hepática crônica ou aguda, câncer, doenças neurológicas, psiquiátricas, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS); grávidas ou lactantes e portadores de doença renal não foram incluídos no estudo. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (Parecer: 566.857).

No primeiro encontro, foram coletadas a história clínica e medidas antropométricas, incluindo o cálculo do IMC de cada um dos fumantes por uma equipe multiprofissional capacitada para realizar todos os procedimentos, com o objetivo de caracterizar a amostra e controlar possíveis fatores intervenientes.

O procedimento padrão do CIPIT define como conduta para a participação dos projetos que todos os participantes sejam, inicialmente, avaliados pelo médico responsável que solicita

a realização dos exames bioquímicos. Após a solicitação, cada sujeito procedeu ao agendamento de sua coleta dentro dos dias e horários previamente estipulados.

As amostras de sangue foram, então, coletadas após 8 a 12h de jejum, no Laboratório de Análises Clínicas do HU/UFJF e centrifugadas dentro de 30 a 45 minutos da recolha e armazenadas a - 80° C até à análise. As dosagens de metabólitos de NO e citocinas foram realizadas no Centro de Tecnologia Celular e Imunologia Aplicada (IMUNOCET) do Instituto de Ciências Biológicas / UFJF. Utilizou-se o método de Griess para a determinação de soro de NO, uma vez que este é o método mais utilizado em estudos experimentais e clínicos (CODOÑER-FRANCH *et al.*, 2011; KESER *et al.*, 2013).

A concentração de NO (indiretamente determinada pela dosagem de nitrito) foi avaliada pelo método de Griess. O excesso de proteínas foi removido por precipitação em ácido/sal. Para realização do teste, 100µL dos soros foram transferidos para placas de 96 poços, posteriormente foi acrescentado igual volume de reagente de Griess (1% de sulfanilamida, 0,1% de N-(1-naftil)-etileno diamina hidrocloreto, 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Sigma, St. Louis, MO, USA). A concentração de NO foi determinada por comparação com uma solução padrão de nitrito de sódio.

Foi utilizada a técnica de CBA a fim de determinar a concentração das citocinas TNF-α, IL-1, IL-6, IL-10 e IL-12 e da quimiocina IL-8, nos sobrenadantes de soros sanguíneos. Para análise da produção de citocinas e quimiocinas, os sobrenadantes dos soros foram descongelados em banho-maria à 37° C e centrifugados por 10 minutos a 14000 rpm. Foram utilizados 5mL dessas amostras para quantificação da produção de quimiocinas. Todos os reagentes usados nessa etapa foram provenientes do kit (“Human Inflammatory Cytokines Kit”) adquirido da Becton Dickinson (San Jose, CA, USA). Em cada tubo com essas alíquotas, foram adicionados 20mL de diluente G. Posteriormente, as amostras receberam 3ml de cada reagente, para marcar a produção da quimiocina IL-8 e das citocinas IL-2, TNF-α, IL-10, IL-6 e IL-12 e, em seguida, foram lavadas com 500mL de reagente F e centrifugadas a 1100 rpm durante 5 minutos. Em cada tubo os sobrenadantes provenientes dessa centrifugação foram aspirados com bomba de vácuo, restando aproximadamente 100ml de amostras marcadas. Foram adicionados 18ml de revelador (reagente B) em cada amostra para incubação à temperatura ambiente por 1:30h.

Após esse período, as amostras foram novamente lavadas, centrifugadas e aspiradas nas mesmas condições citadas acima. Em cada tubo foram colocados 100ml de reagente F para leitura no citômetro de fluxo FACScalibur usando o software CBA Isotype Analysis (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). Após a leitura de padrões e amostras, os dados foram

analisados no software BD CBA Isotype Analysis (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) em que os valores foram representados em concentração (pg/ml) de cada citocina e da quimiocina.

Os valores de resistência à insulina dos participantes no início do tratamento e após 4 meses foram definidos pelo cálculo do índice HOMA-IR, utilizando os valores de glicemia e insulina, aplicando a seguinte fórmula:  $HOMA-IR = [\text{insulina } \mu\text{UI/L} \times \text{glicose mg/dL} / 22,5]$ . O valor de referência utilizado foi de  $\leq 3,40$  mg/dL.

### **Análise Estatística**

Inicialmente foram testados os pressupostos de homogeneidade das variâncias e de normalidade. Foi adotado como critério nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). Todos os dados foram analisados com o pacote estatístico PASW 18.0. Para a descrição dos dados, foram consideradas as medianas e valores mínimos e máximos de todas as variáveis de análise, com exceção da idade, do NO entre abstinentes e não abstinentes e do IMC (variável de controle) que foram analisados observando os valores médios e o desvio padrão.

Para a comparação dos níveis séricos do NO e dos marcadores inflamatórios em tabagistas no início e após 4 meses de tratamento para cessação tabágica, foi utilizado o teste não paramétrico para dados pareados de *Wilcoxon*, e para a comparação entre os valores do NO final dos abstinentes e dos não abstinentes, foi realizado o teste t de *Student* para dados independentes. Para atender ao objetivo de correlacionar os níveis de metabólitos de NO com os marcadores inflamatórios, utilizou-se o teste de *Spearman*.

## **RESULTADOS**

Todos os participantes da pesquisa (30 sujeitos) foram avaliados no início do tratamento e após 4 meses, através do soro coletado, apresentando idade média de  $52,4 \pm 10,59$  anos e IMC inicial de  $27,94 \pm 5,58$  Kg/m<sup>2</sup> e IMC final igual a  $28,63 \pm 5,70$  Kg/m<sup>2</sup>. Vale destacar que a diferença encontrada do valor inicial para o valor final do IMC ( $p=0,018$ ) foi estatisticamente significativa. Dentre os 30 participantes, 5 sujeitos não alcançaram a abstinência total, porém reduziram o número de cigarros/dia. Apesar da participação de todos os indivíduos nos dois momentos de coleta, devido a perdas procedimentais, as análises apresentaram números de sujeitos diferentes em cada uma das variáveis analisadas.

Na análise da variável NO, foi observada uma redução significativa ( $p=0,001$ ) do valor mediano inicial de 18,80 (3,55 – 80,01)  $\mu\text{mol/L}$  para 8,10 (2,85 – 14,97)  $\mu\text{mol/L}$  após 4 meses

do início do tratamento. A redução significativa do valor de NO após os 4 meses pode não significar a redução da sua biodisponibilidade, mas sim um processo adaptativo da ausência da nicotina.

As citocinas analisadas (IL-8, IL-1, IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ ) possuem função pró-inflamatória, com exceção da IL-10 que é anti-inflamatória e acredita-se que a IL-10 também pode ser um fator importante na regulação do mecanismo do NO (TSUEI *et al.*, 2001). Como não houve diferença estatística entre os valores das citocinas pró-inflamatórias do início para o fim do tratamento, sugere-se que o tempo de intervenção (4 meses) não foi suficiente para o aumento do processo inflamatório causado pelo tabagismo. Da mesma forma, observou-se que não foi encontrada diferença significativa ( $p= 0,959$ ) da citocina anti-inflamatória (IL-10) do seu nível inicial (9,20 pg/mL) para o final do tratamento (10,00 pg/mL).

Na análise do índice HOMA-IR que avalia a resistência a insulina, não foi encontrada diferença significativa ( $p = 0,855$ ) nos dois momentos avaliados. Essa estabilização nos níveis do HOMA-IR não significou prejuízo na condição de saúde dos participantes, uma vez que o ponto de corte para o índice HOMA-IR é  $\leq 3,40$  mg/dL. Esses dados podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1- Dados descritivos e comparativos do NO e dos demais marcadores inflamatórios no início e após 4 meses de intervenção para a cessação tabágica.

Variáveis	N	Início da intervenção			Após 4 meses de intervenção			P
		Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	
NO ( $\mu\text{mol/L}$ )	30	18,80	3,55	80,10	8,10	2,85	14,97	0,001*
IL-8 (pg/mL)	15	4,60	3,60	12,60	5,80	1,50	13,00	0,629
IL-1 (pg/mL)	15	10,60	5,20	64,20	7,80	3,10	41,00	0,649
IL-6 (pg/mL)	15	4,80	2,60	19,40	5,40	1,90	15,60	0,683
IL-10 (pg/mL)	16	9,20	4,50	34,80	10,00	3,90	42,60	0,959
IL-12 (pg/mL)	16	27,00	7,30	184,40	42,60	11,00	213,80	0,179
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	15	4,50	2,80	12,20	6,10	2,50	19,20	0,149
HOMA-IR(mg/dL)	23	1,91	1,07	9,99	2,00	0,60	8,76	0,855

Fonte: a autora.

\*  $p < 0,05$ .

Além da análise comparativa do valor de NO do início para o final do tratamento, o presente estudo comparou os valores do NO entre os participantes que pararam de fumar com os daqueles que permaneceram tabagistas ao final do estudo. Diferente da comparação entre os dados do NO no início e no final do tratamento, aqueles participantes que não conseguiram se manter abstinentes ( $9,18 \pm 3,85 \mu\text{mol/L}$ ) e os abstinentes ( $7,58 \pm 3,03 \mu\text{mol/L}$ ) não apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p= 0,304$ ), como demonstrado na tabela 2.



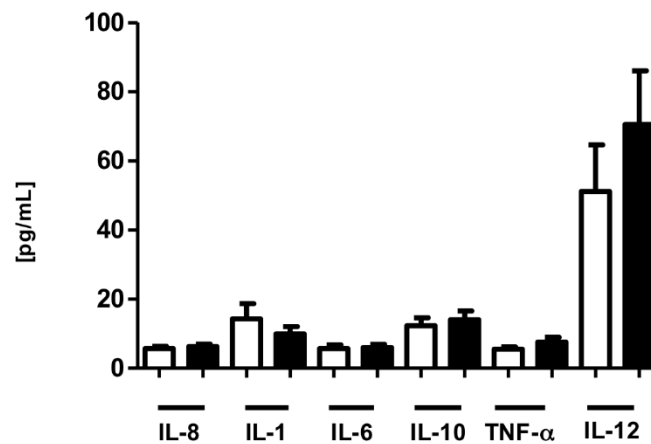
Tabela 2 – Comparação dos valores de NO final entre os participantes que não conseguiram se manter abstinentes e os abstinentes.

	Abstinentes			Não Abstinentes			p
	N	Média	Desvio Padrão	N	Média	Desvio Padrão	
<b>NO final</b>	25	7,58	3,03	5	9,18	3,85	0,304

Fonte: a autora.

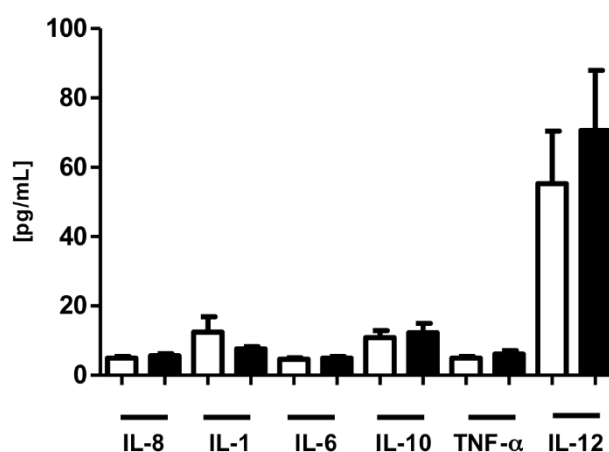
Também não houve diferença estatística dos valores das citocinas analisadas, considerando o status tabágico após 4 meses de tratamento (abstinente x fumante), como apresentado nos gráficos 1 e 2.

Gráfico 1 – Comparação das médias dos marcadores inflamatórios no início e após 4 meses de intervenção com os todos os participantes.



Fonte: a autora.

Gráfico 2 – Comparação das médias dos marcadores inflamatórios no início e após 4 meses de intervenção com a exclusão dos indivíduos que não conseguiram se manter abstinentes.



Fonte: a autora.

Observou-se que somente a citocina IL-12 inicial apresentou correlação negativa com o NO inicial ( $r = -0,670$ ;  $p = 0,005$ ). Todos os valores das correlações são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Dados correlacionais entre o NO e os demais marcadores inflamatórios no início e após 4 meses de intervenção.

Variáveis de Correlação	Início da intervenção		Após 4 meses de intervenção	
	r	p	r	P
NO – IL-8	-0,168	0,549	0,097	0,732
NO – IL-1	0,126	0,656	0,100	0,722
NO – IL-6	-0,427	0,112	0,018	0,950
NO – IL-10	-0,085	0,753	0,032	0,905
NO – IL-12	-0,670	0,005*	-0,043	0,875
NO - TNF-α	-0,358	0,190	-0,224	0,423
NO – HOMA-IR	0,297	0,263	0,273	0,306

Fonte: a autora.

\*  $p < 0,05$ .

## DISCUSSÃO

O tabagismo aumenta consideravelmente a morbidade e mortalidade de doenças cardiovasculares, inflamatórias, pulmonares, câncer, entre outras. Apesar dos riscos associados serem bem difundidos, inaceitavelmente o hábito continua prevalente. Mais de 4700 toxinas presentes no cigarro produzem efeitos imunomoduladores induzindo a inflamações crônicas e modificando as respostas imunológicas.

Este estudo de intervenção comparou os valores iniciais com os valores finais (após 4 meses de tratamento) do NO, das citocinas IL-8, IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, TNF-α e do índice HOMA-IR dos participantes. A hipótese relacionada a esse objetivo era que os valores

encontrados após o tratamento demonstrassem uma melhora no perfil inflamatório para aqueles sujeitos que conseguissem se abster do cigarro. No entanto, apenas o NO apresentou diferença significativa entre os valores iniciais e finais. Tal condição não significa que a diminuição dos valores medianos do NO final possa ser considerada uma reação maléfica ao organismo. Esse resultado pode, ainda, estar relacionado ao tempo estipulado para a intervenção. Corroborando esse resultado, Kalayci *et al.* (2014) descreveram em seu estudo que o NO não é tóxico em baixas concentrações. Apesar de estudos sobre esse assunto estarem aumentando, ainda não foram apresentados resultados conclusivos.

Em estudo realizado por Galley (2000), foi relatado que o importante papel desempenhado pelo NO no controle da função cardiovascular, neurotransmissão e pressão arterial, também é observado no sistema imunológico. Os resultados do NO e das citocinas analisados no presente estudo são semelhantes aos encontrados por Arnson, Shoenfeld e Amital (2010) que descreveram que o tabagismo afeta tanto a resposta imune inata quanto a adaptativa. Esses autores relatam, ainda, que o cigarro aumentou a produção das citocinas pró-inflamatórias analisadas no estudo (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8) e diminuiu os níveis de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10, sendo que o cigarro também foi responsável pela ativação dos macrófagos e da atividade das células dendríticas.

Resultado semelhante já havia sido apresentado no estudo de intervenção realizado com 24 tabagistas e 28 não tabagistas de Zeidel *et al.* (2002) que concluíram que o tabagismo estava relacionado com o aumento das citocinas pró-inflamatórias e que essa relação poderia ter acontecido pelo tipo de análise realizada, que no caso do estudo citado foi semelhante ao do presente estudo que analisou as citocinas no soro, diferente de outros estudos que realizaram a análise em macrófagos alveolares e encontraram diminuição das citocinas pró-inflamatórias.

Em outro estudo, realizado por Rodrigues *et al.* (2014) que analisou a atividade mucociliar nasal e marcadores inflamatórios (IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$ ) de indivíduos após 30 dias de abstinência do tabaco, foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa somente em TNF- $\alpha$ . Concluíram que 30 dias de abstinência foram suficientes para a diminuição da concentração de TNF- $\alpha$  e que houve uma melhora na depuração mucociliar nasal, apesar da inflamação nasal ter se mantido.

Entretanto, Domagala-Kulawik (2008), em um estudo de revisão descrevendo sobre os efeitos do tabagismo no sistema imune, destacou que o principal sistema afetado pela fumaça do cigarro é o trato respiratório. Relata também que a exposição crônica à fumaça do cigarro provoca o aumento da produção de metaloproteinases, por macrófagos e enzimas proteolíticas pelos neutrófilos e que essas enzimas vão causar a destruição da parede alveolar e maior

apoptose do tecido pulmonar. Esse autor, no entanto, relata que muitas alterações imunológicas em fumantes não são completamente reversíveis após parar de fumar e possivelmente em alguns casos, nunca irão voltar ao padrão normal.

Quanto à análise do índice HOMA-IR que avalia a resistência à insulina, o presente estudo não identificou alteração significativa do início para o final do tratamento. Apesar da ausência de diferença significativa, o aumento dos valores do índice HOMA-IR pode estar associado ao aparecimento de novos padrões comportamentais. Estudos relatam (AGUIAR-NEMER *et al.*, 2013; BURKE; HAZUDA; STERN, 2000; CHATKIN; CHATKIN, 2007) que após a cessação do tabagismo os sujeitos adquirem hábitos que estão relacionados ao aumento de peso e conseqüentemente ao aumento do IMC e da CC, devido à diminuição do metabolismo pela ausência da nicotina, condição que pode estar associada ao ligeiro aumento desse índice no presente estudo.

Ao correlacionar o NO com as demais citocinas e com o índice HOMA-IR, antes e depois do tratamento, esperava-se encontrar a existência de correlação entre todos os marcadores inflamatórios, uma vez que essa condição tem sido descrita num grande número de estudos (BEAULIEU *et al.*, 2014; BIRBEN *et al.*, 2012; KALAYCI *et al.*, 2014; PIRES *et al.*, 2012). Mas as correlações realizadas no presente estudo não forneceram evidências de que o NO pudesse estar relacionado com nenhuma das citocinas analisadas, nem com o índice HOMA-IR, no início e depois do tratamento. A única exceção encontrada foi na correlação entre o NO e a citocina IL-12 no início do tratamento, sendo que essa correlação foi significativa ( $p= 0,001$ ), negativa e de média magnitude ( $r= 0,670$ ).

Essa correlação inversa pode ser explicada com base nos achados de Kroening *et al.* (2008) que relataram que a fumaça do cigarro suprime as subunidades p35 e p40 da IL-12p70 o que gera um aumento do estresse oxidativo nos tabagistas, permitindo afirmar que, com o tratamento de cessação tabágica, os participantes do estudo tiveram uma redução na quantidade de fumaça inalada e por consequência, um aumento dos níveis de IL-12 e diminuição dos níveis do NO no final do tratamento, justificando a correlação encontrada.

Por fim, foram observadas algumas limitações relacionadas com os resultados encontrados neste estudo. A primeira delas está relacionada ao elevado número de sujeitos que abandonaram a pesquisa, pois 159 indivíduos iniciaram o tratamento, sendo que 86 foram incluídos no estudo e apenas 30 sujeitos permaneceram até o final dos 4 meses de intervenção. Outra limitação relacionou-se às perdas procedimentais durante a análise das citocinas, diminuindo o número de dados coletados e, aliado a isso, observou-se também que o tempo de

tratamento deste estudo talvez tenha sido um terceiro fator limitante considerando os resultados encontrados.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A redução significativa dos níveis de NO após o tratamento neste estudo fez emergir uma nova questão sobre os benefícios e malefícios associados a sua dosagem sérica. Principalmente, se for considerada a sua função no processo inflamatório, quando relacionado com a ação das citocinas.

De fato, os resultados encontrados rejeitaram a hipótese de que os valores de NO apresentariam um discreto aumento e que as citocinas pró-inflamatórias apresentariam redução dos valores finais. Provavelmente, esse resultado foi influenciado pelo aumento do sobrepeso, que promoveu a manutenção do processo inflamatório, uma vez que o excesso de peso corporal gera essa condição.

Uma outra consideração importante é de que o tempo determinado para o tratamento pode ter sido insuficiente para se perceber uma melhora no estado geral dos participantes. Sendo assim, é importante lembrar que todos os participantes utilizaram a TRN durante todo o tratamento, o que significa que não ficaram isentos por completo da nicotina no organismo e que esse fato também pode ter sido determinante para os resultados encontrados.

Contudo, isso pode não significar graves prejuízos para o organismo, mas sim um processo adaptativo pela redução do uso da nicotina. É importante que as pesquisas que abordem esse assunto sejam continuadas para que um maior reconhecimento dos mecanismos do uso contínuo do cigarro possam elucidar novas abordagens terapêuticas para o tratamento da abstinência.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Laboratório de Imunologia da UFJF- IMUNOCET; as bolsistas: Fernanda Soares e Marília Câmara por auxiliar na coleta dos dados; ao HU-UFJF; a equipe CIPITI-HU/UFJF; a Residência Multiprofissional em Saúde do Adulto/ HU-UFJF e a Carmen do Laboratório de Análises Clínicas do HU/UFJF. Agradecemos em especial ao CNPq e a FAPEMIG.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR-NEMER, A. S. et al. Craving and Food Choices in patients under treatment for smoking cessation. **Internacional Journal of Food Science, Nutricional and Dietetics**. v. 2, n. 3, p. 35-39, 2013.
- ARNSON, Y.; SHOENFELD, Y.; AMITAL, H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. **Journal of autoimmunity**. v. 34, n. 3, p. 258 – 265, 2010.
- BEAULIEU, L. M. Interleukin 1 Receptor 1 and Interleukin 1 $\beta$  Regulate Megakaryocyte Maturation, Platelet Activation, and Transcript Profile During Inflammation in Mice and Humans. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v. 34, n. 3, p. 552–564. 2014.
- BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization Journal**. v. 5, p. 9 – 19, 2012.
- BURKE, J. P.; HAZUDA, H. P.; STERN, M. P. Rising trend in obesity in Mexican Americans and non-Hispanic whites: is it due to cigarette smoking cessation? **International journal of obesity and related metabolic disorders**. v. 24, n. 12, p. 1689 – 1694, 2000.
- CHATKIN, R.; CHATKIN, J. M. Tabagismo e variação ponderal: a fisiopatologia e genética podem explicar esta associação? **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 33, n. 6, p.712-719, 2007.
- CHIOLERO, A. et al. Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 87, p. 801 – 809, 2008.
- CODOÑER-FRANCH, P. et al. Nitric oxide production is increased in severely obese children and related to markers of oxidative stress and inflammation. **Atherosclerosis**. v. 215, n. 2, p. 475-480, 2011.
- DAS, L. Effect of smoke and non-smoke tobacco on nitric oxide levels in diabetic patients. **Journal of Translational Internal Medicine**. v. 2, n.1, p. 36 – 39, 2014.
- DIEHL, A. et al. **Dependência química: prevenção e tratamento**. Porto alegre: Artmed, 2011.
- DOMAGALA-KULAWIK, J. Effects of cigarette smoke on the lung and systemic immunity. **Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 59, n. 6, p. 19-34, 2008.
- ELABRAS FILHO, J. et al. Novas perspectivas para a abordagem da inflamação na rinite e na asma: atualização. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**. v. 34, n. 1, p.12-18, 2011.
- ELIASSON, B. The insulin resistance syndrome in smokers is related to smoking habits. **Arteriosclerosis and Thrombosis**. v. 14, n. 12, 1994.
- FACCHINI, F. S. Insulin resistance and cigarette smoking. **The Lancet**. v. 339, n. 8802, p. 1128–1130, 1992.

GALLEY, H. F. Anaesthesia and the nitric oxide-cyclic GMP pathway in the central nervous system. **British Journal of Anaesthesia**. v. 84, p. 141 – 143, 2000.

GHASEMI, A. et al. Serum nitric oxide metabolite levels in a general healthy population: relation to sex and age. **Life Sciences**. v. 83, p. 326 – 331, 2008.

KALAYCI, D. et al. Níveis plasmáticos de interleucina-10 e óxido nítrico em resposta a duas taxas de fluxo em anestesia com desflurano. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 64, n. 4, p. 292 – 298, 2014.

KELM, M.; SCHRADER, J. Control of coronary vascular tone by nitric oxide. **Circulation Research**. v. 66, n. 6, 1990.

KESER, A. et al. Brain nitric oxide metabolites in rats preselected for nicotine preference and intake. **Neuroscience Letters**. v. 545, p. 102– 106, 2013.

KROENING, P. R. et al. Cigarette smoke-induced oxidative stress suppresses generation of dendritic cell IL-12 and IL-23 through ERK-dependent pathways. **The Journal of Immunology**. v. 181, n. 2, p. 1536 – 1547, 2008.

KUNZ L. I. et al. Smoking status and anti-inflammatory macrophages in bronchoalveolar lavage and induced sputum in COPD. **Respiratory Research**. v. 22; p. 12 – 34, 2011.

LEITE-MOREIRA, A. F. et al. Efeitos do óxido nítrico sobre a função cardíaca. **Revista Portuguesa de Cardiologia**. v. 17, p. 177-180, 1998.

MANZANO, B. M. et al. Implicações do tabagismo sobre o controle autônomo cardíaco. **Arquivos de Ciência da Saúde**. v. 17, n. 2, p. 97 -101, 2010.

OLIVEIRA, C. B. et al. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 61, n. 2, p. 255-265, 2011.

PIRES, K. P. et al. Oxidative damage in alveolar macrophages exposed to cigarette smoke extract and participation of nitric oxide in redox balance. **Toxicology in Vitro**. v. 26, p. 791– 798, 2012.

REICHERT, J. et al. **Diretrizes para cessação do tabagismo**. Smoking cessation guidelines. 2008.

RODRIGUES, Z. M. M. et al. Nsal and systemic inflammatory profile after short term smoking cessation. **Respiratory Medicine**. v. 108, p. 999-1006, 2014.

ROMITELLI, F. Comparison of nitrite/nitrate concentration in human plasma and serum samples measured by the enzymatic batch Griess assay, ion-pairing HPLC and ion-trap GC–MS: The importance of a correct removal of proteins in the Griess assay. **Journal of Chromatography B**. v. 851, n. 1–2, p. 257–267, 2007.

STEFFEN, Y. et al. Cigarette smoke and LDL cooperate in reducing nitric oxide bioavailability in endothelial cells via effects on both NOS and NADPH oxidase. **Nitric Oxide**. v. 27, n. 3, p. 176–184, 2012.

STEPTOE, A. USSHER, M. Smoking, cortisol and nicotine. **International Journal of Psychophysiology**. v. 59, p. 228 – 235, 2006.

TSUEI, B. J. et al. Surgery induces human mononuclear cell arginase I expression. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**. v. 51, n. 9, p. 497-502, 2001.

ZEIDEL, A. et al. Immune response in asymptomatic smokers. **Acta anaesthesiologica Scandinavica**. v. 46, p. 959 – 964, 2002.



## 10 CONCLUSÃO

O tabagismo vem sendo descrito como um dos 10 maiores fatores de risco para a saúde e estima-se que mais de 1 bilhão de homens e mulheres atualmente são fumantes. As substâncias químicas e bioativas que compõem o tabaco podem interagir com os sistemas biológicos humanos, expondo o organismo ao estresse oxidativo. Confirmando esses conceitos, o perfil descrito dos participantes deste estudo indica condições desfavoráveis à manutenção da saúde, quando são demonstrados valores elevados de peso corporal, IMC e alto grau de dependência. Essa condição indesejada parece determinar os achados dos artigos 1 e 2.

No artigo 1, parece que a característica de sobrepeso de todo o grupo é determinante e que essa variável agrava os danos causados pelo tabagismo e no artigo 2, é possível perceber que os marcadores inflamatórios estão relacionados às respostas imunes na presença do tabagismo, apesar da ausência de correlação significativa.

Esses achados permitem concluir que mais estudos são necessários para um melhor entendimento dos processos inflamatórios e a complexidade das ações que a nicotina pode exercer no organismo fornecendo, assim, bases para o desenvolvimento de novas técnicas, agentes terapêuticos e planos de ação de prevenção e combate ao tabagismo e sua dependência.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Major histocompatibility complex molecules and antigen presentation to T lymphocytes**. In: *celular and molecular immunology*. 7 ed. 2013.
- ABREU, M. N.; SOUZA, C. F.; CAIAFFA, W. T. Tabagismo entre adolescentes e adultos jovens de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: influência do entorno familiar e grupo social. **Caderno de Saúde Pública**. v. 27, n. 5, p. 935-943, 2011.
- AGUIAR-NEMER, A. S. et al. Craving and food choices in patients under treatment for smoking cessation. **Internacional Journal of Food Science, Nutricional and Dietetics**. v. 2, n. 3, p. 35-39, 2013.
- ALBANES, D. et al. Associations between smoking and body weight in the U.S. population: analysis of NHANES II. **American Journal of Public Health**. v. 77, n. 4, p. 439-444, 1987.
- ALIANÇA DE CONTROLE DO TABAGISMO (ACT). **Relatório da sociedade civil sobre a situação das doenças crônicas não transmissíveis no Brasil**. 2014.
- BALAKUMAR, P.; KAUR, J. Is nicotine a key player or spectator in the induction and progression of cardiovascular disorders? **Pharmacological Research**. v. 60, n. 5, p. 361-368, 2009.
- BARRENECHEA, M. A. et al. Prevalencia del consumo de tabaco en adolescentes. influencia del entorno familiar. **Anales de Pediatría (Barcelona)** n. 66, p. 357-366, 2007.
- BARRETO, R. L.; CORREIA, C. R.; MUSCARÁ, M. N. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Química Nova**. v. 28, n. 6, p. 1046-1054, 2005.
- BARROS, A. J. D. et al. Tabagismo no Brasil: desigualdades regionais e prevalência segundo características ocupacionais. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 16, n. 9, p. 3707- 3716, 2011.
- BECHARA, M. J. et al. **Fumo ou saúde**. São Paulo (SP): Bradepca, p. 27-33, 1985.
- BEAULIEU, L. M. interleukin 1 receptor 1 and interleukin 1 $\beta$  regulate megakaryocyte maturation, platelet activation, and transcript profile during inflammation in mice and humans. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v. 34, n. 3, p. 552-564. 2014.
- BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization Journal**. v. 5, n. 9, p. 9-19, 2012.
- CARVALHO, A. A. et al. Controle do tabagismo em instituição de longa permanência para idosos: relato de experiência. **Ciência e Saúde Coletiva**. v.18, n. 04, p. 1119-1130, 2013.
- CAVALCANTE, T. M. O controle do tabagismo no Brasil: avanços e desafios. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 32, n. 5, p. 283-300, 2005.

- CHATKIN, R.; CHATKIN, J. M. Tabagismo e variação ponderal: a fisiopatologia e genética podem explicar esta associação? **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 33, n. 6, p.712-719, 2007.
- CHEDRAUI, P. et al. Pro-inflammatory cytokine levels in postmenopausal women with the metabolic syndrome. **Gynecological endocrinology**. v. 27, p. 685–691, 2011.
- CHEDRAUI, P. et al. Nitric oxide and pro-inflammatory cytokine serum levels in postmenopausal women with the metabolic syndrome. **Gynecological Endocrinology**. v. 28, n. 10, p. 787–791, 2012.
- CHIOLERO, A. et al. Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 87, p. 801–809, 2008.
- CINCIPRINI, P. M. et al. Tobacco addiction: implications for treatment and cancer prevention. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 89, n. 24, 1997.
- CONSUEGO, R. V. G.; ZAGO, M. M. F. Crenças entre fumantes em um programa de saúde cardiovascular. **Revista Latino Americana de Enfermagem**. v.12, p. 412-419, 2004.
- COSTA E SILVA, V. L.; ROMERO, L. C. Programa nacional de combate ao fumo: plano de trabalho para o período 1988-2000. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 38, p. 245 – 254, 1988.
- DANI, J. A.; HEINEMANN, S. Molecular and cellular aspects of nicotine abuse. **Neuron**. v. 16, n. 5, p. 905 -908, 1996.
- DUSSE, L. M.; VIEIRA, L.; CARVALHO, M. G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 39, n. 4, p. 343- 350, 2003.
- ELABRAS FILHO, J. et al. Novas perspectivas para a abordagem da inflamação na rinite e na asma: atualização. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**. v. 34, n. 1, p. 12-18, 2011.
- FARIA, C.S. et al. Tabagismo e obesidade abdominal em doadores de sangue. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 38, n. 3, p. 356-363, 2012.
- FILOZOF, C.; FERNÁNDEZ PINILLA, M.C.; FERNÁNDEZ-CRUZ, A. Smoking cessation and weight gain. **Obesity Reviews**.v. 5, n. 2, p. 95-103, 2004.
- FLORA FILHO, R.; ZLBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade, metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.
- FREUND, K. M. et al. The health risks of smoking. the Framingham study: 34 years of follow-up. **Annals of Epidemiology**. v. 3, p. 417–421, 1993.
- FRÖHLICH, M. et al. Independent association of various smoking characteristics with markers of systemic inflammation in men. **European Heart Journal**. v. 24, n. 14, p. 1365 – 1372, 2003.

FURCHGOTT, R. F. et al. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**. v. 53, p. 557-573, 1984.

GHASEMI, A. et al. Serum nitric oxide metabolite levels in a general healthy population: relation to sex and age. **Life Sciences**. v. 83, p. 326-331, 2008.

GODOY I. Prevalência de tabagismo no Brasil: medidas adicionais para o controle da doença devem ser priorizadas no ano do pulmão. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 36, n. 4-5, 2010.

GOMES, F. et al. Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 94, n. 2, p. 273-279, 2010.

GREEN, L. C.; TANNENBAUM, S. R.; GOLDMANN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, p. 56-58, 1981.

GUSTAFSON B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**. v. 17, p. 332-341, 2010.

GUVEN, A.; TOLUN, F. Effects of smokeless tobacco “Maras Powder” use on nitric oxide and cardiovascular risk parameters. **Internacional Journal Medicine Science**. v. 9, n. 9, p. 786-792, 2012.

HALTY, L. S. et al. Análise da utilização do Questionário de Tolerância de Fagerstrom (QTF) como instrumento de medida da dependência nicotínica. **Jornal de Pneumologia**. v. 28, n. 4, p. 180-186, 2002.

HEGESH, E.; SHILOAH, J. Blood nitrates and infantile methemoglobinemia. **Clinica Chimica Acta**. v. 125, p. 07-42, 1982.

HIBBS, J. B.; TAINTOR, R. R.; VAVRIN, Z. Macrophage cytotoxicity: role of L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. **Science**. v. 235, p. 473-476, 1987.

HORTENSE, F. P.; CARMAGNANI, M. S.; BRÊTAS, A. P. O significado do tabagismo no contexto do cancer de laringe. **Revista Brasileira de Enfermagem**. v. 61, n. 1, p. 24-30, 2008.

IGNARRO, L. J. et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS) USA**. v. 84, p. 9265-9269, 1987.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Abordagem e Tratamento do Fumante – Consenso 2001**. Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/tabagismo/publicacoes/tratamento\\_consenso.pdf](http://www.inca.gov.br/tabagismo/publicacoes/tratamento_consenso.pdf). > Acesso em 13 jul. 2014.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **O Controle do Tabagismo no Brasil: avanços e desafios, 2004**. Disponível em: <[http://www1.inca.gov.br/tabagismo/31maio2004/tabag\\_br\\_folheto\\_04.pdf](http://www1.inca.gov.br/tabagismo/31maio2004/tabag_br_folheto_04.pdf). > Acesso em 20 dez. 2014.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **The IDF consensus worldwide definition on the metabolic syndrome**, 2006, 24 p.

IRIBARREN, C. et al. Effect of cigar smoking on the risk of cardiovascular disease, chronic obstructive pulmonary disease, and cancer in men. **New England Journal of Medicine**. v. 340, p. 1773-1780, 1999.

ISSA, J. S. Um novo escore para dependência a nicotina e uma nova escala de conforto do paciente durante o tratamento do tabagismo. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 38, n.6, p. 761-765, 2012.

JOHSON, H. M. et al. Effects of smoking and smoking cessation on endothelial function: one-year outcomes from randomized clinical trial. **Journal American College of Cardiology**. v. 55, n. 180, p. 1988-1995, 2010.

JUBRI, Z. et al. Perturbation of cellular immune functions in cigarette smokers and protection by palm oil vitamin E supplementation. **Nutrition Journal**. v. 12, n. 2, 2013.

KANNEGANTI, T.D.; DIXIT, D. Immunological complications of obesity. **Nature Immunology**. v. 3, n.8, p.707-712, 2012.

KALAYCI, D. et al. Níveis plasmáticos de interleucina-10 e óxido nítrico em resposta a duas taxas de fluxo em anestesia com desflurano. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 64, n. 4, p. 292-298, 2014.

KATZUNG, B. G.; MASTER, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. 12. ed. Lange, 2013.

KESER, A. et al. Brain nitric oxide metabolites in rats preselected for nicotine preference and intake. **Neuroscience Letters**. v. 545, p. 102-106, 2013.

KLEIN, L. C.; CORWIN, E. J.; CEBALLOS, R. M. Leptin, hunger, and body weight: influence of gender, tobacco smoking, and smoking abstinence. **Addictive Behaviors**. v. 29, n.5, 921-927, 2004.

KLESGES, R. C.; VANDER, W. M.; SHERRILL-MITTMAN, D. A. Smoking and body weight: is smoking associated with body weight in youth and are concerns related to body weight associated with smoking in youth and young adults. **Surgeon General Report of Smoking and Health**. Rockville, MD, 2009.

KUNZ, L.; et al. Smoking status and anti-inflammatory macrophages in bronchoalveolar lavage and induced sputum in COPD. **Respiratory Research**. v. 22, p. 12-34, mar. 2011.

LEE, W. Y. et al. Effects of smoking, alcohol, exercise, education, and family history on the metabolic syndrome as defined by the ATP III. **Diabetes Research and Clinical Practice**. v. 67, n. 1, p. 70-77, 2005.

LEMOSSANTOS, M. G.; GONÇALVES-SILVA, R. M.; BOTELHO, C. Tabagismo, composição corporal, distribuição da adiposidade e ingestão alimentar em fumantes, não fumantes e ex-fumantes. **Folha Médica**. v. 119, n. 3, p. 23-31, 2000.

LEVY, D.; ALMEIDA, L. M.; SZKLO, A. The Brazil sim smoke policy simulation model: the effect of strong tobacco control policies on smoking prevalence and smoking-attributable deaths in a middle income nation. **PLOS Medicine**. v. 9, p. 1-12, 2012.

LIU, J. et al. Regulation of nitric oxide by cigarette smoke in airway cells. **Open Journal of Respiratory Diseases**. v. 2, p. 9 – 16, 2012.

LLOYD-JONES, D. et al. Heart disease and stroke statistics. 2010 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**. v. 121, p. 46 –215, 2010.

MACMICKING, J.; XIE, Q. W.; NATHAN, C. Nitric oxide and macrophage function. **Annual Review of Immunology**. v. 15, p. 323–350, 1997.

MAGDALENO JR., R.; CHAIM, L.; TURATO, E. Características psicológicas de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 31, n. 1, p. 73-78, 2009.

MALCON, M. C.; MENEZES, A. M. B.; CHATKIN, M. Prevalência e fatores de risco para tabagismo em adolescentes. **Revista de Saúde Pública**. n. 37, p.1-7, 2003.

MANZANO, B. M. et al. Implicações do tabagismo sobre o controle autônomo cardíaco. **Arquivos de Ciência da Saúde**. v. 17, n. 2, p. 97 -101, 2010.

MARLETTA, M. A. et al. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. **Biochemistry**. v. 27, p. 8706-8711, 1988.

MARTIN, J. G. et al. Interleucina-12 em crianças com sepse e choque Séptico. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. v. 24, n. 2, p. 130-136, 2012.

MAZUREK, T. et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. **Circulation**. v. 108, n. 20, p. 2460-2466, 2003.

NAMMI, S. et al. Obesity: an overview on its current perspective and treatment options. **Nutrition Journal**, v.3, n.3, 2004.

MESSNER, B.; BERNHARD, D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. **Arteriosclerosis Thromboses Vascular Biology**, 2014.

NAOUM, P. C. **Citocinas**. São Paulo: Academia de ciência e tecnologia de São José do Rio Preto, 2009.

NORTHROP-CLEWES, C. A.; THURNHAM, D. I. Monitoring micronutrientes in cigarette smokers. **Clinica Chimica Acta**. v. 377, n. 1-2, p.14-38, 2007.

NUNES, S. O. V. et al. The shared role of oxidative stress and inflammation in major depressive disorder and nicotine dependence. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. v. 37, p. 1336-1345, 2013.

- O'BRIEN, C. P. **Drug addiction and abuse**. In: Hardman, J.G.; Limbird, L.E. (eds). Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th Ed. Pregamon: New York. p. 621- 642, 2001.
- OLIVEIRA, C. M. B. et al. Citocinas e Dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 61, n. 2, p. 255-265, 2011.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde – décima revisão- (CID 10)**. 4 ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1997.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Obesidade e sobrepeso: o que são obesidade e sobrepeso**, ficha nº 311, março, 2011.
- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Smoking and health in the Americas: a 1992 report of the Surgeon General, in collaboration with the Pan American Health Organization**. Atlanta (GE): PAHO, 1992.
- PANAGIS, G. et al. Selective C-Fos induction and decreased dopamine release in the central nucleus of amygdala in rats displaying a mecamylamine-precipitated nicotine withdrawal syndrome. **Synapse**. v. 35, n.1, p.15-25, 2000.
- PASCHOAL, V.; NAVES A.; FONSECA, A. B. **Nutrição clínica funcional: dos princípios à prática clínica**. 2. ed. Editora VP, 2014.
- PICCIOTTO, M. R. et al. Nicotine Receptors in Brain: Links between Molecular Biology and Behavior. **Neuropsychopharmacology**. v. 22, p. 451- 464, 2000.
- PIRES, K. M. P. et al. Oxidative damage in alveolar macrophages exposed to cigarette smoke extract and participation of nitric oxide in redox balance. **Toxicology in Vitro**. v. 26, p. 791–798, 2012.
- PLANETA, C. S., CRUZ, F. C. Bases neurofisiológicas da dependência do Tabaco. **Revista de Psiquiatria Clínica**. v. 32, n. 5, p. 251-258, 2005.
- PRESSMAN, S; CARNEIRO, E; GIGLIOTTI, A. Tratamentos não farmacológicos para o tabagismo. **Revista de Psiquiatria Clínica**. v. 32, n. 5, p. 267-275, 2005.
- PRESSMAN, S.; GIGLIOTTI, A. **Nicotina**. In: DIEHL, A. *et al.* Dependência química: prevenção, tratamento e políticas públicas. Porto Alegre: Artmed, 2011. Cap. 13, p. 145-160.
- PURANIK, R.; CELERMAJER, D. S. Smoking and endothelial function. **Progress in Cardiovascular Diseases**. v. 45, p. 443 – 458, 2003.
- REICHERT, J. et al. **Diretrizes para cessação do tabagismo**. Smoking cessation guidelines. 2008.
- REINALDO, A. S. et al. Uso de tabaco entre adolescentes: revisão de literatura. **Revista Electronica Salud Mental Alcohol y Drogas**. v. 6, n. 2, artigo 8, 2010.

- ROBBINS, C. S. et al. Cigarette smoke impacts immune inflammatory responses to influenza in mice. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. v. 174, p. 1342–1351, 2006.
- RODRIGUES, G. S. et al. Hormonal, metabolic and nutritional alterations in smokers: emergency for smoking abstinence. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**. v. 62, n. 4, p. 261-267, 2013.
- RONDINA, R.; GORAYEB, R.; BOTELHO, C. Características psicológicas associadas ao comportamento de fumar tabaco. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 33, n. 5, p. 592-601, 2007.
- ROSEMBERG, J. **Pandemia do tabagismo: enfoques históricos e atuais**. São Paulo: Secretaria Estadual de Saúde, 2002.
- SANTOS, L. M. et al. Trends in morbid obesity and bariatric surgeries covered by the brazilian public health system. **Obesity Surgery**. v.20, n. 7, p. 943-948, 2010.
- SARAIVA, M.; O'GARRA, A. A regulação da produção de IL-10 por células do sistema imunológico. **Nature Reviews Immunology**. v.10, p.170-181, 2010.
- SNYDER, S. H.; BREDET, D. S. Biological roles of nitric oxide. **Scientific American**. p. 28-35, may, 1992.
- STEFFEN, Y. et al. Cigarette smoke and LDL cooperate in reducing nitric oxide bioavailability in endothelial cells via effects on both eNOS and NADPH oxidase. **Nitric Oxide**. v. 27, p. 176-184, 2012.
- STUEHR, D. J.; MARLETTA, M. A. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite in response to escherichia coli lipopolysaccharide. **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS) USA**. v. 82, p. 7738-7742, 1985.
- SCHWARTZ, J. L. Método para parar de fumar. clínica médica da América do Norte. **Tabagismo**. v. 2, p. 457-479, 1992.
- TZAVARA, E. T. et al. Nicotine withdrawal syndrome: behavioural distress and selective up-regulation of the cyclic AMP pathway in the amygdala. **European Journal of Neuroscience**. v. 16. n. 1, p. 149-153, 2002.
- VAN BERKEL, T. F. M. et al. Impact of smoking cessation and smoking interventions in patients with coronary heart disease. **European Heart Journal**. v. 20, p. 1773–1782, 1999.
- VARGAS, R.; BARBOSA, R. M., TAVARES, F. A. Ilusão das imagens: olhar psicossocial sobre fumar nos filmes brasileiros. **Psicologia & Sociedade**; v. 26, n. especial, p. 235-244, 2014.
- VASSALLE, C. et al. Age-related oxidative stress modulation by smoking habit and obesity. **Clinical Biochemistry**. v. 42, p. 739–741, 2009.



VITALE, R. F.; RIBEIRO, F. A. Q. O papel do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido da orelha média. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**. v. 73, n. 1, jan. /fev. 2007.

VOGT, O. **A produção de fumo em Santa Cruz do Sul – RS (1849-1993)**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 1997.

VOLP, A. C. P. et al. Lifestyle and metabolic syndrome: exercise and smoking as modulators of inflammation. **Journal of Health Sciences Institute**. v. 30, n. 1, p. 68-73, 2012.

WILD, S. H, BYRNE, C. D. ABC of obesity. Risk factors for diabetes and coronary heart disease. **British Medical Journal**. v. 333, p.1009-1011, 2006.

WILSON, P. W. Cumulative effects of high cholesterol levels, high blood pressure, and cigarette smoking on carotid stenosis. **New England Journal of Medicine**. v. 337, p. 516-522, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Classificação de transtornos mentais e de comportamento da CID-10**. Porto Alegre: Artmed, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The tobacco industry documents**. What they are, what they tell us, and how to search them. A practical manual. 2002.

YUGAR –TOLEDO, J. **Estudo comparativo da reatividade vascular em tabagistas, diabéticos e hipertensos**. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

YUGAR-TOLEDO, J.; MORENO JÚNIOR, H. Implicações do tabagismo ativo e do tabagismo passivo como mecanismos de instabilização da placa aterosclerótica. **Revista Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**. v. 12, n. 4, p. 595-605, 2002.

## APÊNDICE A – Versão do artigo 1 em inglês

### SERUM CONCENTRATION OF NITRIC OXIDE IN WOMEN SMOKERS AND NONSMOKERS WITH OVERWEIGHT

#### ABSTRACT

**Introduction:** Nitric oxide (NO) modulates inflammatory or anti-inflammatory reactions which may have beneficial or toxic effects depending on the concentration. Chronic exposure to nicotine induces vascular endothelial dysfunction while overweight promotes the release of pro-inflammatory cytokines, resulting in decreased synthesis and bioavailability. **Objective:** To evaluate the serum concentration of NO in female smokers (SG) and overweight nonsmokers (NSG). **Methods:** Blood samples from smokers (n = 20) and nonsmokers (n = 18) were collected to obtain the serum, and stored at -80°C until analysis. NO was measured by the total dose of nitrite determined by the *Greiss* method. We used the *Student t* test for comparison of mean age and waist circumference (WC) and the *Mann Whitney U*-test to compare the median concentrations of nitrite (NO), the number of cigarettes/day and Body Mass Index (BMI). We adopted a significance level of  $p < 0.05$ . **Results:** The median of NO in SG was 16.53 (2.79 to 69.72)  $\mu\text{mol/L}$ , while in the NSG was 10.85 (1.44 to 43.25)  $\mu\text{mol/L}$  ( $p = 0.028$ ). The BMI value was for SG and NSG, respectively, 29.50 (25.00 to 38.14)  $\text{kg/m}^2$  and 30.68 (25.10 to 36.98)  $\text{kg/m}^2$  ( $p = 0.530$ ), and classed as overweight. **Conclusion:** The values of NO found for the NSG were significantly lower than the values of SG. Despite this difference, both groups may be suffering decrease in bioavailability, which may be associated with increased risk factors for diseases related to smoking and being overweight.

**Keywords:** Smoking. Nitric Oxide. Overweight. Inflammation. Addiction.

#### INTRODUCTION

Nitric oxide (NO) is a radical free, gaseous, inorganic, which is one of the most important mediators of intracellular and extracellular inflammatory processes. It is produced from L-arginine by a reaction mediated by class of enzymes NO synthase, which may be beneficial or harmful to the body depending on its concentration (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003; KESER *et al.*, 2013).

NO is involved in vascular relaxation having a major role in protecting blood vessels and as a modulator in several essential biological processes. Its effect is present particularly in situations of oxidative stress, generation of oxygen intermediates and deficient antioxidant system (KESER *et al.*, 2013; STEFFEN *et al.*, 2012). Certain substances can alter and improve the malefic effects of NO as the nicotine (GUVEN; TOLUN, 2012).

Nicotine stimulates the release of catecholamines, causing injury to the arterial endothelium and promoting atherogenesis. Furthermore, the largest production of free radicals and aromatic compounds cigarette decreases the synthesis of NO in endothelium, impairing relaxation of the arteries revealed an early sign of endothelial dysfunction. Smokers have alterations in vascular biological balance as in vascular tone, favoring vasoconstriction, platelet aggregation and thrombogenesis (BALAKUMAR; KAUR, 2009; YUGAR - TOLEDO, 2000).

Tabagism is associated with a number of disorders and also chronic diseases such as hypertension, heart diseases and respiratory diseases. Stopping smoking is an important strategy to reduce morbidity and mortality associated with these tobacco-related diseases (CHATKIN; CHATKIN, 2007). Associated with obesity, the metabolic profile of the smoker can still aggregate other cardiovascular risk factors such as dyslipidemia and insulin resistance (LEE; KO; PARK, 2013).

It is known that there is an inverse relation between the use of nicotine and body weight. According to studies, the Body Mass Index (BMI) tends to be lower in smokers compared to nonsmokers, because the use of this substance increases the basal metabolism and alters brain neurotransmitters which contribute to decreased appetite and, consequently, to lower energy intake (CHATKIN; CHATKIN, 2007). However, the lifestyle of smokers contributes to the development of obesity because they are more sedentary and have poor dietary habits. Excess weight is also the key to keep smoking and discourages the search for treatment to stop smoking (GESLAIN-BIQUEZ, 2003; GIL-LACRUZ; GIL-LACRUZ, 2012), besides being an additional factor that can alter the synthesis and action of NO as well, and inflammatory profile generation (CODONER-FRANCH *et al.*, 2011).

Female individuals have been a focus of study due to factors associated with the development of cardiovascular diseases (IGNACIO *et al.*, 2009). During the aging process, changes occur in the metabolic profile resulting in changes in the composition and distribution of adipose tissue, facilitating the weight gain as well as the progression of the atherosclerotic process (MUST *et al.*, 1999; CHEDRAUI *et al.*, 2012). Several studies suggest that women hormonal changes modulate endothelial cell function through effects on the production or activity of NO. For example, estradiol exerts vasodilation effect, by acting on the stimulation of NO synthesis, as well as the change of progesterone that combined with estrogen can alter the activity of NO (ABOU-MOHAMED *et al.*, 2003; FRIDMAN, 2004).

Nitrites and nitrates are the stable end-products of the reaction of NO with molecular oxygen. The dosage of NO is complex and therefore its indirect determination by measuring

metabolites is widely used in the characterization of inflammatory profile (FLORA FILHO; ZLBERSTEIN, 2000).

Until the present moment, there are insufficient reports on the concentration of NO or its metabolites in smokers and nonsmokers who are overweight, requiring more studies about this issue to better understand the inflammatory state associated with the smoking habit. Thus, the aim of this study was to evaluate the serum concentration of NO in female smokers (GT) and overweight nonsmokers women (GNT). Considering, as previously described, the relationship between smoking and body weight, this study also aims to correlate age, BMI, number of cigarettes/day and waist circumference (WC) with NO and, yet, correlate BMI with CC and cigarettes/day and to correlate WC with cigarettes/day.

## **METHODS**

This is a study of cross-sectional design with a convenience sample in which 20 smoking women (SG) on treatment for withdrawal at the Center for Tobacco Research and Intervention of the University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora were evaluated (CIPITI-HU/UFJF) and 18 non-smoking women (NSG) who initiated treatment for weight loss in Clinical Nutrition Ambulatory/HU-UFJF. The study was carried out with overweight and sedentary women, aged between 20 and 72 and who agreed to participate.

They were invited to sign a consent term and then included in this study. Pregnant women or nursing mothers, severe heart disease, liver disease, chronic or acute, cancer, neurological diseases, psychiatric and Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) kidney disease holders were not included in the study. The proposal was approved by the Ethics in Research Committee of the Federal University of Juiz de Fora (Number: 566.857).

In the first day of follow-up, clinical history and anthropometric measurements were assessed in each of the smokers and nonsmokers by trained professionals and students working on both ambulatories. We collected data about smokers' length of smoking, age at initiation of smoking, number of cigarettes smoked per day.

Anthropometric nutritional assessment was performed at the beginning of the treatment of smokers and nonsmokers. Body weight (BW), height, waist circumference (WC) were measured in a reserved room and with standardized protocols (WHO, 1998). The BW measurement was performed using electronic digital balance (Welmy®), and the patients were assessed barefoot and wore light clothing. Height was measured with a stadiometer, with the patient standing, barefoot, arms outstretched next to the trunk and heels together, raising their

head with eyes fixed on the horizon, touching the vertical rod of the stadiometer. The interpretation of the results followed the cutoffs  $WC \geq 80\text{cm}$  for women, indicating risk of cardiovascular disease measures that exceeded these values. To assess the nutritional status, Body Mass Index (BMI) was calculated by the formula:  $BMI = \text{weight (kg)} / \text{height (m}^2\text{)}$ . The classification was performed as proposed by World Health Organization (WHO, 1998).

Blood samples were taken after 12 to 14h overnight fasting and centrifuged, within 30 to 45 min of collection and stored at  $-80^\circ\text{C}$  until analysis. These tests were performed at the Center of Cellular Technology and Applied Immunology (IMUNOCET) of the Institute of Biological Sciences/UFJF. We used the Greiss method for determining serum NO, since it is the most frequently used assay in experimental and clinical studies (CODOÑER-FRANCH *et al.*, 2011; KESER *et al.*, 2013). In brief, excess protein was removed by precipitation in acid/salt. To perform the test, 100mL serum samples were transferred to 96 templates subsequently added to equal volume of Griess reagent (1% sulfanilamide, 0.1% N - (1-naphthyl) ethylene diamine Hydrochloride 5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , Sigma, St. Louis, MO, USA). The concentration of NO was determined by comparison with a standard solution of sodium nitrite and from the linear standard curve established by 0–100 $\mu\text{mol/L}$  sodium nitrate.

### **Statistical analysis**

Initially the homogeneity of variances and normality were tested. It was adopted as criterion significance level of 5% ( $\alpha=0.05$ ). All data were analyzed using the statistical package PASW 18.0.

To compare the mean age and CC between groups, it was performed the Student's t test. To compare the variables, cigarettes / day, BMI and NO between the groups, it was performed the Mann-Whitney U test. The correlation analysis between groups, between BMI, WC and NO was performed using the Spearman test.

## **RESULTS**

The study included 38 women (smokers = 20 and nonsmokers = 18). The average age of participants was  $47.63 \pm 11.33$  years. The SG had a mean age of  $52.15 \pm 8.58$  years and the NSG averaged  $42.61 \pm 12.11$  years. The median value of NO of all participants was 11.36 (1.44 - 69.72)  $\mu\text{mol/L}$ , while in the SG was 16.53 (2.79 - 69.72)  $\mu\text{mol/L}$  and the NSG was 10.85

(1.44 - 43.25) mmol/L. Importantly, the groups showed homogeneous in relation to the variables analyzed.

In the descriptive analysis of the cigarettes smoked by SG, we found median of 20 (5 - 40) cigarettes/day. To the BMI values of all women, median was 29.98 (25 - 38.14) kg/m<sup>2</sup>. The SG presented median value of 29.50 (25 - 38.14) kg/m<sup>2</sup> and the NSG presented median value of 30.68 (25.10 - 36.98) kg/m<sup>2</sup>. When analyzing the data for WC, the mean encountered for all participants was 91.23 ± 12.29 cm, the mean for the SG was 91.48 ± 12.76 cm, and the mean of NSG was 90.97 ± 12.11 cm. All descriptive data are presented in table 1.

Table 1 - Descriptive data of age, WC, NO, BMI and number of cigarettes/day of total subjects, and SG and NSG groups.

VARIABLES	ALL SUBJECTS (n=38)	SG (n= 20)	NSG (n= 18)
	Mean ± Standard Deviation	Mean ± Standard Deviation	Mean ± Standard Deviation
Age (years)	47.63 ± 11.33	52.15 ± 8.58	42.61 ± 12.11
WC (cm)	91.23 ± 12.29	91.48 ± 12.76	90.97 ± 12.11
	Median (Min-Max)	Median (Min-Max)	Median (Min-Max)
NO (µmol/L)	11.36 (1.44 – 69.72)	16.53 (2.79 – 69.72)	10.85 (1.44 – 43.25)
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	29.98 (25 – 38.14)	29.50 (25 – 38.14)	30.68 (25.10 – 36.98)
Cigarettes/day	-----	20 (5 – 40)	-----

When comparing the study variables between the groups, it was found that there is a statistical difference between the average age of groups (SG = 52.15 ± 8.58 years; NSG = 42.61 ± 12.11 years; p = 0.001). In the comparative analysis of the WC values, it was also found statistically significant differences between groups (SG = 91.48 ± 12.76 cm; NSG = 90.97 ± 12.11 cm; p = 0.001). Comparing the NO values, the SG and the NSG also showed a statistically significant difference (SG = 16.53 (2.79 - 69.72) mmol/L; NSG = 10.85 (1.44 - 43.25) mmol / L; p = 0.028). There was no significant difference when comparing the median BMI between the SG and the NSG (29.50 kg/m<sup>2</sup> and 30.68 kg/m<sup>2</sup>; p = 0.530), confirming also overweight condition in both groups. All comparative data are presented in Table 2.

Table 2 - Comparison between the mean of age and WC and between the medians of NO and BMI between the SG and NSG groups.

	SG		NSG		p
	N	Mean ± Standard Deviation	N	Mean ± Standard Deviation	
Age (year)	20	52.15± 8.58	18	42.61± 12.11	0.000*
WC (cm)	20	91.48 ± 12.76	18	90.97 ± 12.11	0.000*
		Median (Min-Max)		Median (Min-Max)	
NO (µmol/L)	20	16.53 (2.79 – 69.72)	18	10.85 (1,44 – 43.25)	0.028*
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	20	29.50 (20 - 37)	18	28.00 (22 - 34)	0.530

BMI - Body Mass Index; NO - metabolites of nitric oxide; WC - waist circumference.

\* p <0.05. Comparison smokers vs. non-smokers groups.

Correlational analyses were performed on age, BMI, number of cigarettes/day and WC with NO and also between BMI and WC, between BMI and cigarettes/day, and between WC and cigarettes/day between the groups. In the correlation analysis between the NO and WC, it was found a positive and statistically significant correlation in SG ( $r = 0.540$ ;  $p = 0.014$ ), while in NSG, no significant correlation was found ( $r = -0.172$ ,  $p = 0.494$ ).

In correlation analyses between NO and BMI, NO and cigarettes/day in SG, and NO and age were not statistically significant correlations in both groups. There was also no significant correlation between BMI and cigarettes/day and between WC and cigarettes/day. In the correlation between BMI and WC, we observed a positive and significant correlation in the SG ( $r = 0.633$ ;  $p = 0.005$ ). All correlation data are showed in Table 3.

Table 3- Correlation between age, BMI, WC, cigarettes/day and NO between the SG and NSG groups.

Correlation variables	SG		NSG	
	r	p	r	p
NO - BMI	0,260	0.269	-0.053	0.835
NO - Cigarettes/day	0.182	0.441	-	-
NO - Age	-0.130	0.584	0.022	0.932
NO - WC	0.540	0.014*	-0.172	0.494
BMI - Cigarettes/day	-0.310	0.184	-	-
BMI - WC	0.119	0.616	0.633	0.005**
WC - Cigarettes/day	0.085	0.723	-	-

BMI – Body Mass Index; NO – Metabolites of Nitric Oxide;  
WC – Waist Circumference.

\*  $p < 0,005$ .

\*\*  $p < 0,001$ .

## DISCUSSION

The present study found significant difference in the concentration of NO in smoking and non-smoking women, both overweight. It was noted that 100% of smoking and non-smoking women showed values of NO lower than  $24.4 \mu\text{mol/L}$  found by Ghasemi *et al.* (2008) in a population-based study of healthy women. As demonstrated in previous studies (RYTILÄ *et al.*, 2006; VARGAS *et al.*, 2013), these values can be related to potential risk for the development of chronic low-grade inflammation, culminating in vascular changes due to excess body fat, which can be aggravated by smoking, known factor involved in these disorders in different clinical conditions.

In Eid *et al.* (2004) study, which evaluated the concentration of endogenous NO in obese and smokers individuals, it was found average NO concentration  $26.1 \mu\text{mol/L}$ , while the median value found in this study group of overweight smokers was  $16.53 \mu\text{mol/L}$ . The authors warn

that overweight and smoking affect the concentrations of NO may exacerbate endothelial dysfunction, collaborating with the worsening of the inflammatory process. They also reported that high BMI combined with smoking may be determinant for metabolic disorders contributing to atherosclerotic disease, insulin resistance and diabetes. However, in the study of EID *et al.* (2004) reported results were not only obese subjects.

In our study, we compared individuals with excess weight smokers and nonsmokers and different than expected, the average concentrations of NO found in women nonsmokers who are overweight (10.85 $\mu$ mol/L) was 35.36% less than those found in the group of smokers (16.53  $\mu$ mol/L). The significant difference ( $p = 0.028$ ) found in NO values between groups confirms the idea that overweight smokers seem to have an increased production of nitric oxide than nonsmokers, which may be an effect of nicotine since this seems to increase the levels of leptin, which is known to stimulate the production of nitric oxide (RODRÍGUEZ *et al.*, 2007).

The median value of NO (16,53 $\mu$ mol/L) found in the SG was higher than that found in the NSG (10,85 $\mu$ mol/L), although below the reference value for healthy individuals, but it seems that this result is related with age in SG (52.1 years). This finding is supported for Ghasemi *et al.* (2008) and Ghasemi, Zahedias and Azizi (2010) studies, which demonstrated a significant relationship between age and serum NO. In this study the authors correlated the concentrations of NO with age in 5 categories (20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60+ years) and they realized that over 50-year women had highest levels of serum NO. It was also reported a possible relationship with the climacteric period, and/or menopause (GHASEMI *et al.*, 2008; WATANABE *et al.*, 2000).

Although NO is highly toxic, it has a beneficial characteristic. This molecule is part of the arsenal of the first defense mechanism of the body, acting as antibacterial, antiparasitic and antiviral against invading microorganisms. NO in the cardiovascular system is responsible for maintaining blood flow and control of tissue extravasation, as well as broncho-pulmonary system homeostasis, keeping the airway caliber and balancing the relation ventilation/perfusion (FLORA FILHO; ZLBERSTEIN, 2000). Kato *et al.* (2006) reported a reduction in plasma concentrations of NO in smokers associated with smoking in accordance with increase in the concentration of carbon monoxide in exhaled air (COex). Furthermore, in individuals with greater weight, reduction of NO can be more present. In our study, there was no association between number of cigarettes/day and concentration of NO metabolites.

Todaa and Todab (2010) warn us that not only active smokers but also passive smokers is liable to the deleterious effects of nicotine and that over time, may develop serious illnesses resulting in higher morbidity and mortality. For this purpose, it becomes important second Liu



*et al.* (2012), the measurement of serum levels of NO in the overall clinical evaluation of smokers, and should not be less important that evaluate the profile of the smoker, the level of nicotine dependence and motivation to quit smoking (REICHERT *et al.*, 2008). This dosage could also be a priority for passive smokers, because due daily and intermittent contact with cigarette smoke, probably their pathways of oxidative stress already are changed.

The overweight and smoking status present in the women involved in this study, may have contributed to the decreased levels of nitrites found. These factors increase the production of free radicals, reduce the bioavailability of NO and intensify the inflammatory state. The tobacco use is associated with toxic mechanisms direct of nicotine, such as aggravation of atherosclerosis and increased risk of coronary artery disease (YUGAR-TOLEDO, 2000). Overweight induces the inflammatory process generated by a sedentary lifestyle and bad alimentary habits, causing the unbalance of blood glucose and altered lipoprotein metabolism, lowering HDL-c, increasing LDL-c and total cholesterol (GOMES *et al.*, 2010).

This strengthens the premise that smoking and being overweight are important factors associated with changes in balance oxidant and antioxidant, pro-inflammatory and anti-inflammatory profile. Resulting in harmful to health, particularly when combined with other factors such as age, sedentary lifestyle, cigarettes/day, pre and/or post-menopause period, which is aggravated for these two groups (EID *et al.*, 2004; GHASEMI; ZAHEDIAS; AZIZI, 2010; SANTOS *et al.*, 2006).

It was also found that the values of BMI and WC confirm that, besides being overweight, these women have their body fat distributed with android profile. And yet the average age of these women corresponds to the period of climacteric, menopause and post menopause, tending to increase the risk factors for coronary heart disease. Similar results were found by Domenico *et al.*, (2008) in a review of literature. Several other studies reported data demonstrating that women in menopause period had BMI increased, as well as changes in the pattern of body fat distribution, accentuating the WC. However, it is believed that reduction of body weight induced by balanced diet, physical activity and health habits can reverse endothelial dysfunction, decreasing the pro-inflammatory process, improving the NO production (DOMENICO *et al.*, 2008; HEITZER *et al.*, 2000).

The results of this study should be interpreted with regard to its strengths and limitations. The present study design was a cross-sectional study which can only examine an exposure at a particular time and cannot determine causal relations. Furthermore, the small sample size of the groups (SG and NSG) may have contributed to significant differences not found in some results. Other studies with larger samples should be conducted to test this

negative relation about the health of the smokers with overweight. Another limitation was that this study did not consider the quantification of COex in the groups to classify the smoking status and whether there were passive smokers among the control group.

Despite some limitations, our results provide evidence that smoking associated with overweight contributes to changes in nitric oxide concentrations in women. Furthermore, this study adds to literature a warning of the health damage caused by smoking combined with being overweight, as there are few studies in the literature correlating overweight women who are smokers and overweight. It is thought that the deepening of thorough clinical evaluation of individuals who decide to quit smoking and lose weight healthfully increases the outlook of an improvement in overall clinical presentation, reversing damage caused by smoking and reducing risks for developing chronic non-transmissible diseases.

## **CONCLUSION**

The results indicate a decrease in NO metabolites in overweight women, regardless of their being smokers. Even with significant difference in mean values of NO between the groups, all study participants had values below the reference value for healthy women. So, it seems that smoking does not interfere with nitrite levels in patients already impaired by obesity.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors thanks the Laboratory of Cell Therapy and Applied Immunology (IMUNOCET); the students: Fernanda dos Santos Soares, Laíta Babio, Marília Câmara and Tatiana Thees for help in data collection; Multidisciplinary Program for Residence in Adult Health; Laboratory of Clinical Analysis of the HU and CIPIT/HU/UFJF; to National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and to Foundation for Research of Minas Gerais (FAPEMIG).

## REFERENCES

- Abou-Mohamed G, Elmarakby A, Carrier GO, Catravas JD, Caldwell RW, White RE. **Estradiol relaxes rat aorta via endothelium-dependent and –independent mechanism.** *Pharmacology*. 2003; 69 (1): 20-6.
- Balakumar P, Kaur J. **Is nicotine a key player or spectator in the induction and progression of cardiovascular disorders?** *Pharmacological Research*. 2009; 60 (5): 361–368.
- Chatkin R, Chatkin JM. **Tabagismo e variação ponderal: a fisiopatologia e genética podem explicar esta associação?** *J Bras Pneumol*. 2007; 33 (6): 712-719.
- Chedraui P, Escobar GS, Ramírez C, Pérez-López FR, Hidalgo L, Mannella P, Genazzani A, Simoncini T. **Nitric oxide and pro-inflammatory cytokine serum levels in postmenopausal women with the metabolic syndrome.** *Gynecological Endocrinology*. 2012 Oct; 28 (10): 787-791.
- Chiolero A, Faeh D, Paccaud F, Cornuz J. **Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance.** *Am J Clin Nutr*. 2008; 87: 801–9.
- Codoñer-Franch P, Tavárez-Alonso S, Murria-Estald R, Megías-Vericate J, Tortajada-Girbésa M, Alonso-Iglesias E. **Nitric oxide production is increased in severely obese children and related to markers of oxidative stress and inflammation.** *Atherosclerosis*; 2011; 215 (2), 475-480.
- Domenico D, Setten L, Liberali R, Navarro F. **Correlação entre obesidade e menopausa. Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento.** São Paulo. 2008; Maio/Jun; 2 (9): 279-287.
- Dusse LM, Vieira L, Carvalho MG. **Revisão sobre óxido nítrico.** *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2003; 39 (4): 343- 50.
- Eid HMA, Arnesen H, Hjerkin EM, Lyberg T, Seljeflot I. **Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine.** *Metabolism*. 2004; 53 (12): 1574–1579.
- Flora Filho R, Zlberstein B. **Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade, metabolismo, síntese e funções.** *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2000; 46 (3): 265-271.
- Fridman FZ. **Níveis séricos de estradiol, progesterona e óxido nítrico em gestantes nulíparas normais e com síndrome de pré-eclâmpsia.** *Dissertação (Mestrado)*. Porto Alegre: PUCRS, 2004.
- Geslain-Biquez C, Tichet J, Caradec A, D’Hour A, Balkau B, and the D.E.S.I.R. Study Group. **The metabolic syndrome in smokers.** *The D.E.S.I.R. study. Diabetes Metab*. 2003; 29: 226-34.

Ghasemi A, Zahedi S, Mehrabi Y, Saadat N, Azizi F. **Serum nitric oxide metabolite levels in a general health population: relation to sex and age.** *Life Sciences*. 2008; 83: 326-331.

Ghasemi A, Zahedi S, Azizi F. **Reference values for serum nitric oxide metabolites in an adult population.** *Clinical Biochemistry*. 2010; 43: 89–94.

Gil-Lacruz AI, Gil-Lacruz M. **The role of risk propensity in smokers and overweight people.** *Revista Psiquiatrica Salud Mental (Barcelona)*. 2012; 5:139-49.

Gomes F, Telo D, Souza H, Nicolau JC, Halpern A, Serrano Jr. C. **Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular.** *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. 2010; 94 (2): 274-279.

Güven A, Tolun, F. **Effects of smokeless tobacco “maras powder” use on nitric oxide and cardiovascular risk parameters.** *Int J Med Sci*. 2012; 9 (9):786-792.

Heitzer T, Brockhoff C, Mayer B, Warnholtz A, Mollnau H, Henne S, Meinertz T, Münzel T. **Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation in chronic smokers: evidence for a dysfunctional nitric oxide synthase.** *Circ Res*. 2000 Feb; 86 (2): E36-41.

Ignacio DL, Frankenfeld TGP, Fortunato RS, Vaisman M, Werneck-de-Castro JPS, Carvalho DP. **Regulação da massa corpórea pelo estrogênio e pela atividade física.** *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009; 53 (3): 310-317.

Kato T, Inoue T, Morooka T, Yoshimoto N, Node N. **Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in nonsmokers.** *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2006 May; 84 (5): 523-529.

Keser A, Nesil T, Kanit L, Pogun S. **Brain nitric oxide metabolites in rats preselected for nicotine preference and intake.** *Neuroscience Letters*. 2013; 545: 102– 106.

Lee JY, Ko YJ, Park SM. **Factors associated with current smoking and heavy alcohol consumption among women of reproductive age: the Fourth Korean.** *National Health and Nutrition Examination Survey 2007 - 2009. Public Health*. 2013; 127: 473 - 481.

Liu J, Wang J, Siew Sim A, Mohan N, Chow S, Yates DH, Wang X, Thomas PS. **Regulation of nitric oxide by cigarette smoke in airway cells.** *Open Journal of Respiratory Diseases*. 2012; 2: 9 – 16.

Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. **The disease burden associated with overweight and obesity.** *JAMA*. 1999; 282 (16): 1523-1529.

Reichert J, Araújo A, Gonçalves C, Godoy I, Chatkin J, Sales M, Santos S. **Diretrizes para cessação do tabagismo.** *Smoking cessation guidelines*. 2008.

Rodríguez A, Fortuño A, Gómez-Ambrosi J, Zalba G, Díez J, Frühbeck G. **The inhibitory effect of leptin on angiotensin II-induced vasoconstriction in vascular smooth muscle cells is mediated via a nitric oxide-dependent mechanism.** *Endocrinology*. 2007; 148 (1): 324-31.

Rytilä P, Rehn T, Ilumets H, Rouhos A, Sovijärvi A, Myllärniemi M, Kinnula VL. **Increased oxidative stress in asymptomatic current chronic smokers and GOLD stage 0 COPD.** *Respir. Res.* 2006; 7: 69.

Santos C, Portella E, Avila S, Soares E. **Fatores dietéticos na prevenção e tratamento de comorbidades associadas à síndrome metabólica.** *Rev. Nutr. Campinas.* 2006 Maio/Jun; 19 (3): 389-401.

Steffen Y, Vuillaume G, Stolle K, Roewer K, Lietz M, Schueller J, Lebrun S, Wallerath T. **Cigarette smoke and LDL cooperate in reducing nitric oxide bioavailability in endothelial cells via effects on both NOS and NADPH oxidase.** *Nitric Oxide.* 2012; 27 (3): 176–184.

Todaa N, Todab H. **Nitric oxide-mediated blood flow regulation as affected by smoking and nicotine.** *European Journal of Pharmacology.* 2010; 649: 1-13.

Vargas HO, Sandra Odebrecht Nunes V, Pizzo de Castro MR, Vargas MM, Barbosa DS, Bortolasci CC, Venugopale K, Dodd S, Berk M. **Oxidative stress and inflammatory markers are associated with depression and nicotine dependence.** *Neuroscience Letters.* 2013 Jun 7; 544:136-40.

World Health Organization. **Obesity: preventing and managing the global epidemic.** Report of a WHO Consultation. Geneva, World Health Organization 1998. Technical Report Series, 894.

Yugar TJ. **Estudo comparativo da reatividade vascular em tabagistas, diabéticos e hipertensos.** Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

## ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP HU/UFJF  
JUIZ DE FORA – MG – BRASIL

NOME DO SERVIÇO DO PESQUISADOR: AMBULATÓRIO DE PREVENÇÃO, TRATAMENTO E CONTROLE DO TABAGISMO DO HU/UFJF

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: ALINE SILVA DE AGUIAR NEMER  
ENDEREÇO: UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA, INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO. BAIRRO MARTELOS. CEP: 36036-330 – JUIZ DE FORA – MG  
FONE: (32) 2102-3234  
E-MAIL: aline.nemer@ufjf.edu.br

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado (a) como voluntário a participar da pesquisa “**Acompanhamento clínico, nutricional e bioquímico de fumantes abstinentes e não abstinentes em tratamento**”. Neste estudo pretendemos avaliar o estado nutricional e bioquímico de tabagistas em tratamento no Ambulatório de Prevenção, Tratamento e Controle do Tabagismo (HU/UFJF) e promover orientação nutricional através de acompanhamento individual e coletivo.

O motivo que nos leva a realizar este estudo se justifica por ser o tabagismo uma enfermidade que acomete toda a sociedade indiscriminadamente. É considerado, portanto, uma questão de saúde pública por se tratar de uma doença crônica que requer acompanhamento para o seu controle. Desta forma, há necessidade de entender os fatores envolvidos no estabelecimento da abstinência, inclusive a alteração do estado nutricional, do perfil bioquímico e de aspectos comportamentais e sociais durante a manutenção da abstinência tabágica. Conhecer o perfil desse público e sua relação com o tabaco é fundamental para planejar políticas públicas e ações mais eficazes para a assistência, além de auxiliar na continuidade de estudos futuros sobre o tema.

Para este estudo adotaremos os seguintes procedimentos: **entrevistas e preenchimento de questionários**: você responderá a questionários com questões simples e de fácil compreensão no início e durante o tratamento a fim de acompanhar as alterações no desejo em usar a droga e na escolha de alimentos. O tempo aproximado para realização da entrevista é de 30 minutos. Os questionários encontram-se à disposição para conhecimento prévio, basta solicitá-los à equipe de pesquisa, que os enviaremos para você. **Avaliação Antropométrica**: serão tomadas as medidas corporais de peso, estatura, dobras cutâneas, circunferências de cintura, quadril e braquial. Esses procedimentos serão realizados por equipe previamente treinada e em sala apropriada pertencente ao Ambulatório de Prevenção, Tratamento e Controle do Tabagismo (HU/UFJF). Pequeno incômodo pode ser causado ao tomar as medidas antropométricas, já que você deverá tirar os sapatos, excesso de adereços e estar vestindo roupas leves. **Exames bioquímicos**: os exames bioquímicos (exames de sangue) serão solicitados pelo médico do Ambulatório e realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora. Serão coletados cerca de 10 mL de sangue e seus resultados serão registrados em seu prontuário no Ambulatório. Após quatro meses, os exames serão repetidos para acompanhamento para isso você será comunicado pela equipe de pesquisadores. A realização do exame é de baixo risco uma vez que todo material utilizado é descartável e estéril (seringas, agulhas, tubos para análise e luvas). O responsável pela coleta de sangue está devidamente treinado para a atividade. Apenas ocorrerá um pequeno incômodo ou dor no momento da coleta. Será necessário jejum de 8 a 12 horas para a realização dos exames. Contamos com a sua colaboração para estar presente no dia agendado para a coleta do exame. Os resultados dos exames serão recolhidos no Laboratório de Análises Clínicas pela equipe de pesquisadores e arquivados em seu prontuário.

Todas as informações têm caráter confidencial, ficando garantido a todos que colaborarem com este estudo, o total sigilo das informações, como também a garantia de que nada será compartilhado com nenhuma esfera institucional. O material ficará de posse do pesquisador por 5 anos após o qual será descartado. Ficando reservadas tanto a identificação dos entrevistados, como toda e qualquer informação que o mesmo desejar excluir. Espera-se com este projeto de investigação contribuir para uma maior compreensão sobre a relevância do tratamento do tabagista e da manutenção da sua abstinência, assim como a proposição de uma nova abordagem integral e interdisciplinar nos serviços de saúde que oferecem assistência para este público. Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador. O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Este estudo apresenta risco maior que o mínimo, isto é, risco maior que o existente em atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler, etc, devido a coleta de sangue. Apesar disso, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de quaisquer danos eventualmente produzidos pela pesquisa. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pela pesquisadora responsável no Ambulatório de Prevenção, Tratamento e Controle do Tabagismo (HU/UFJF) e a outra será fornecida a você.

### **Este trabalho ficará muito enriquecido com sua participação!**

Eu, \_\_\_\_\_, portador(a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_ fui informado dos objetivos do estudo **“Acompanhamento clínico, nutricional e bioquímico de fumantes abstinentes e não abstinentes em tratamento”**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

Nome	Assinatura participante	Data
Nome	Assinatura pesquisador	Data

*Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o CEP HU – Comitê de Ética em Pesquisa HU/UFJF. Hospital universitário Unidade Santa Catarina Prédio da Administração Sala 27 CEP 36036-110 E-mail: cep.hu@ufjf.edu.br*

## ANEXO B – Ficha de identificação do paciente

### Ambulatório de Prevenção, Controle e Tratamento do Tabagismo do HU/CAS - UFJF

#### I – Identificação do Paciente

DATA:     /     /

Nome: \_\_\_\_\_

Sexo:     M             F                                  Prontuário n°: \_\_\_\_\_

DN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Naturalidade: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_ Escolaridade: \_\_\_\_\_ Completo?  sim  não

Profissão: \_\_\_\_\_ Local de trabalho: \_\_\_\_\_ Turno de Trabalho: \_\_\_\_\_

Estado civil: \_\_\_\_\_ Cor ou Raça/Etnia:  branca  preta  parda  amarela  indígena

Religião: \_\_\_\_\_

Integrantes da família	Parentesco	Fumante	Ocupação	Renda

#### II – Dados de Encaminhamento

Procura voluntária                                   Profissional de Saúde: Qual? \_\_\_\_\_

Amigo/colega

Outros \_\_\_\_\_



**III – Anamnese clínica****História Patológica:**

1. No momento você apresenta algum sintoma respiratório?  S  N  
Qual? \_\_\_\_\_

2. Você tem ou teve algum problema de saúde?

- Ulceração de boca Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Gengivite Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Problema de ATM Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- DM Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- HAS Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Doença renal Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Doença Hepática Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Insuficiência coronariana Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- AVE Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Úlcera péptica/gastrite Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Alergia cutânea Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Rinite Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- DPOC Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Asma Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Câncer Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Transtorno mental (problema emocional/psicológico)  
Diagnóstico \_\_\_\_\_ Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Obesidade Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Bulimia/Anorexia Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Epilepsia Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Crise convulsiva Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Alcoolismo Faz tratamento?  S Qual? \_\_\_\_\_  N
- Outros \_\_\_\_\_

Alguém na família apresenta ou apresentou algum problema de saúde?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

3. Você já se submeteu a alguma cirurgia?  S  N  
Qual(s)? \_\_\_\_\_

4. Está tomando algum medicamento?  S  N  
Qual(s)? \_\_\_\_\_

5. Tem prótese dentária móvel?  S  N

6. No seu trabalho opera máquinas ou executa atividades que exija concentração?  S  N

7. Se for do sexo feminino: Número de gestações: \_\_\_\_\_ Abortos: \_\_\_\_\_

8. Está grávida?  S Semanas: \_\_\_\_\_  N
9. Está amamentando?  S  N
10. Faz uso de contraceptivo oral?  S  N
11. Faz reposição hormonal?  S  N

#### IV – Exame físico

Peso \_\_\_\_\_ Altura \_\_\_\_\_ IMC \_\_\_\_\_  
 Circunferência Abdominal: \_\_\_\_\_  
 PA \_\_\_\_\_ CO \_\_\_\_\_ HbCO \_\_\_\_\_  
 Último cigarro \_\_\_\_\_ SatO2 \_\_\_\_\_  
 ACV: \_\_\_\_\_  
 AR: \_\_\_\_\_  
 Outros: \_\_\_\_\_

#### V – Exames complementares

1. Prova de Função Pulmonar:

Data:	Pré	%	Pós	%
CVF				
VEF1				
VEF1/CVF				

2. Radiografia de tórax:
- \_\_\_\_\_

3. ECG: \_\_\_\_\_

4. Peak Flow e manovacuometria (PI max \_\_\_\_\_) (PE max \_\_\_\_\_)

5. Outros: \_\_\_\_\_

#### VI – História tabágica

1. Nos últimos 30 dias, o (A) Sr.(A) fumou pelo menos um cigarro ou até mesmo deu uma tragada?

S  N  Ex-fumante

Há quanto tempo parou de fumar? \_\_\_\_\_ dias \_\_\_\_\_ meses \_\_\_\_\_ anos

2. Com que idade começou a fumar? \_\_\_\_\_ anos

3. Há quanto tempo o(a) Sr.(a) começou a fumar cigarros, regularmente, quer dizer, pelo menos 1 cigarro por semana? \_\_\_\_\_

4. Atualmente, o(a) Sr.(a) fuma cigarros diariamente?  S  N  INATIVO

5. Em média, quantos cigarros o(a) Sr.(a) fuma por dia?

(Preencher apenas uma opção segundo a resposta do informante (Cigarros ou Maços))

Cigarros por dia

Maços por dia

NS/NR/Variável

Inativo

6. Que tipo de cigarro o(a) Sr.(a) fuma mais: **Leia as alternativas.**

Cigarro industrializado

- Cachimbo
  - Cigarro de palha
  - Charuto
  - Fumo de corda
  - Outros \_\_\_\_\_ (especifique)
- Contagem: |\_|\_|\_|

7. Em quais situações o cigarro está associado no seu dia-a-dia?

- falar no telefone       alegria       bebida alcoólica
- café       refeições       ansiedade
- tristeza       trabalho       nenhum
- outros \_\_\_\_\_

8. Das frases abaixo diga com qual (s) você concorda:

- Fumar é um grande prazer       Fumar é muito saboroso
- O cigarro me acalma       Gosto de fumar para ter alguma coisa nas mãos
- Fumo porque acho que emagrece       Acho charmoso fumar

9. Já conseguiu deixar de fumar?

- S       N       Nunca tentou

10. O(a) Sr.(a), já parou de fumar por pelo menos 1 dia, porque estava tentando seriamente parar de vez?

- S       N

11. Quantas vezes no último ano o(a) Sr.(a) tentou parar de fumar?

|\_|\_| vezes

12. Quando foi a última vez que o(a) Sr.(a) tentou parar de fumar? **Leia as alternativas.**

- durante o último mês       mais de um mês até 6 meses atrás
- mais de 6 meses até 12 meses atrás       há mais de 12 meses

13. Ainda que tenha ou não conseguido deixar de fumar, **em alguma tentativa**, utilizou algum recurso para ajudar?

- N       S

14. Para tentar parar de fumar o(a) sr.(a): **Leia as alternativas.**

- Recebeu algum tipo de tratamento com profissionais de saúde
- Usou algum tipo de medicamento
- Tentou parar por conta própria

15. Qual foi o tipo de tratamento ou medicamento que o(a) Sr.(a) recebeu? **Leia as alternativas**

- Recebeu orientações em consulta com algum profissional de saúde (médico, enfermeiro, psicólogo ou assistente social)?
- Participou de grupos para ajudar o fumante a parar?
- Fez tratamento com laser ou acupuntura?

16. Onde recebeu esse tratamento?

- Unidade Básica de Saúde (UBS/PSF)
- SECOTT
- Hospitais
- Instituições religiosas
- Consultórios médicos
- Outro: \_\_\_\_\_

17. Por que decidiu parar de fumar agora?

---

### VII- História social e familiar

1. Você convive com fumantes em sua casa?

Sim:  amigo  familiar  outro \_\_\_\_\_  Não

2. Você convive com fumantes em seu trabalho?

Sim:  amigo  familiar  outro \_\_\_\_\_  Não

3. O(A) SR.(A) FICA EM CONTATO COM A FUMAÇA DO CIGARRO DE OUTRAS PESSOAS EM SUA CASA, TRABALHO OU ESCOLA?

1 |  Sim 2 |  Não

Contagem: |  |  |  |  |

3. Você tem facilidade para engordar, emagrecer ou manter o peso?

engordar

emagrecer  manter o peso

4.

Atividade Física						
Você pratica atividade ( ) Sim ( ) Não						
Tipo	Frequência	Duração	Motivo (marcar com x)			
			Saúde	Lazer e Prazer	Manter o peso	Outro: descrever
Quando não pode praticar atividade física, como se sente ( ) irritado ( ) indisposto ( ) indiferente ( ) com medo de engordar ( ) Outro? _____						
Possui orientação profissional para a prática de atividade física? ( ) Sim ( ) Não						

### VIII – Avaliação do grau de dependência (Fargestrom)

1 - Quanto tempo após acordar você fuma seu primeiro cigarro?

- Dentro de 5 minutos (3)                      Entre 31 e 60 minutos (1)  
 Entre 6 e 30 minutos (2)                      Após 60 minutos (0)
2. Você acha difícil não fumar em lugares proibidos como igrejas, bibliotecas, etc?  
 Sim (1)                      Não (0)
3. Qual o cigarro do dia que traz mais satisfação?  
 O primeiro da manhã (1)                      Outros (0)
4. Quantos cigarros você fuma por dia?  
 Menos de 10 (0)                      De 21 a 30 (2)  
 De 11 a 20 (1)                      Mais de 31 (3)
5. Você fuma mais frequentemente pela manhã? Sim (1) Não (0)
6. Você fuma mesmo doente quando precisa ficar de cama a maior parte do tempo?  
 Sim (1)                      Não (0)

7. Grau de Dependência

0 – 2 = Muito baixo

3 – 4 = Baixo

5 = Médio

6 – 7 = Elevado

8 – 10 = Muito elevado

**IX – Transtorno Mental:**

1. Tem ou já teve depressão, ansiedade ou outro problema emocional?

Sim: Qual? \_\_\_\_\_  Não

2. **Se sim:** Fez ou faz acompanhamento com Profissional de Saúde?  Sim: Qual Profissional e data do acompanhamento? \_\_\_\_\_

Não

3. Você faz ou fez uso de algum medicamento relacionado a problemas emocionais?

Sim. Qual (s)? \_\_\_\_\_ (Encontra-se em uso? \_\_\_\_\_)

Não

Não sei

4. Existe algum caso de transtorno mental (problema emocional/ psicológico) na família?

Sim: Qual? \_\_\_\_\_ Grau de parentesco: \_\_\_\_\_

Não

Não sei

**X – Observações:**

---



---



---

---

---

---

---

---

---

---

Profissional de Saúde

---

**ANEXO C – Teste de dependência de nicotina de Fagerstrom**

- |  |     |
|--|-----|
| 1. Quanto tempo após acordar você fuma seu primeiro cigarro?                                     |     |
| • Dentro de 5 minutos  | (3) |
| • Entre 6 e 30 minutos   | (2) |
| • Entre 31 e 60 minutos  | (1) |
| • Após 60 minutos  | (0) |
| 2. Você acha difícil fumar em locais onde o fumo é proibido (como igrejas, bibliotecas, etc.)?   |     |
| • Sim  | (1) |
| • Não  | (0) |
| 3. Qual cigarro do dia que trás mais satisfação (ou que mais detestaria deixar de fumar)?        |     |
| • O primeiro da manhã  | (1) |
| • Outros   | (0) |
| 4. Quantos cigarros você fuma por dia?   |     |
| • 10 ou menos  | (0) |
| • 11 a 20  | (1) |
| • 21 e 30  | (2) |
| • 31 ou mais   | (3) |
| 5. Você fuma mais frequentemente pela manhã (ou nas primeiras horas do dia) que no resto do dia? |     |
| • Sim  | (1) |
| • Não  | (0) |
| 6. Você fuma mesmo quando está tão doente que precisa ficar de cama a maior parte do tempo?      |     |
| • Sim  | (1) |
| • Não  | (0) |

**Tabela de Fagerstrom**

Conclusão quanto ao grau de dependência

- 0 a 2 pontos – muito baixo
- 3 a 4 pontos – baixo
- 5 pontos – médio
- 6 a 7 pontos – elevado
- 8 a 10 pontos – muito elevado

Uma soma acima de seis pontos indica que provavelmente o paciente terá um desconforto ao deixar de fumar.



## ANEXO D - Aprovação da pesquisa pelo comitê de ética do HU/UFJF

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
PRO-REITORIA DE PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP/UFJF  
36036900- JUIZ DE FORA - MG - BRASIL

### Parecer nº 081/2011

**Protocolo CEP-UFJF:** 2331.071.2011 **FR:** 416031 **CAAE:** 0067.0.180.420-11

**Projeto de Pesquisa:** Acompanhamento clínico, nutricional e bioquímico de fumantes abstinentes e não abstinentes em tratamento

**Area Temática:** Grupo III

**Pesquisador Responsável:** Aline Silva de Aguiar Nemer

**Data prevista para o término da pesquisa:** dezembro/2014

**Pesquisadores Participantes:** Ana Lúcia de Almeida Vargas, Sheila Cristina Potente Dutra Luguetti; Murilo Gomes Oliveira; Cátia Aparecida Lopes Nazareth e Renê Gonçalves de Matos.

**Instituição sediadora:** Departamento de Nutrição/ICB-UFJF

#### Análise do protocolo:

Itens Avaliados		Sim	Não	P	NA	
Justificativa	O estudo proposto apresenta pertinência e valor científico	x				
	Objeto de estudo está bem delineado	x				
Objetivo(s)	Apresentam clareza e compatibilidade com a proposta	x				
Material e Métodos	Atende ao(s) objetivo(s) proposto(s)	x				
	Informa	Tipo de estudo	x			
		Procedimentos que serão utilizados	x			
		Número de participantes	x			
		Características da população	x			
		Justificativa de participação em grupos vulneráveis				x
		Critérios de inclusão e exclusão	x			
		Recrutamento	x			
		Riscos ou desconfortos esperados	x			
		Coleta de dados	x			
		Tipo de análise	x			
		Cuidados Éticos	x			
	Assegura o arquivamento do material coletado pelo período mínimo de cinco anos	x				
Explicita como será o descarte do material coletado				x		
Revisão da literatura	Atuais e sustentam o(s) objetivo(S) do estudo	x				
Resultados	Informa os possíveis impactos e benefícios	x				
Orçamento	Lista a relação detalhada dos custos da pesquisa	x				
	Apresenta o responsável pelo financiamento	x				
Cronograma	Agenda as diversas etapas de pesquisa	x				
	Informa que a coleta de dados ocorrerá após aprovação do projeto pelo comitê	x				
Referências	Segue uma normatização	x				
Instrumento de coleta de dados	Possibilita algum constrangimento para o sujeito		x			
	Apresenta pertinência com o(s) objetivo(s) proposto(s).	x				
Termo de dispensa de TCLE	Solicita dispensa				x	
Termo de assentimento	Apresenta o termo em caso de participação de menores				x	
TCLE	Está em linguagem adequada, clara para compreensão do sujeito	x				

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
 PRO-REITORIA DE PESQUISA  
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP/UFJF  
 36036900- JUIZ DE FORA - MG - BRASIL

	Apresenta justificativa e objetivos		x			
	Descreve suficientemente os procedimentos		x			
	Apresenta campo para a identificação dos sujeitos		x			
	Informa que uma das vias do TCLE deverá ser entregue ao sujeito		x			
	Assegura liberdade do sujeito recusar ou retirar o consentimento sem penalidades		x			
	Garante sigilo e anonimato		x			
	Explícita	Riscos e desconfortos esperados	x			
		Benefícios esperados	x			
		Ressarcimento de despesas	x			
		Indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa	x			
Forma de contato com o pesquisador		x				
	Forma de contato com o CEP	x				
Pesquisador (es)	Apresentam titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa		x			
	Apresenta comprovante do Currículo Lattes do pesquisador principal e dos demais participantes.		x			
Documentos	Carta de Encaminhamento à Coordenação do CEP		x			
	Folha de Rosto preenchida		x			
	Projeto de pesquisa, redigido conforme Modelo de Apresentação de Projeto de Pesquisa padronizado pela Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPESQ)		x			
	Resumo do projeto		x			
	Declaração de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa, assinada pelo responsável pelo setor/serviço onde será realizada a pesquisa		x			
	Um CD-ROM gravado contendo: Projeto de pesquisa, Resumo do projeto e TCLE.		x			

**P= parcialmente**


**NA=Não se aplica**

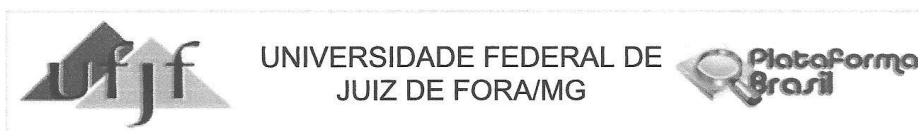
Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto, devendo o pesquisador entregar o relatório no final da pesquisa.

**Situação:** Projeto Aprovado  
 Juiz de Fora, 28 de abril de 2011



Prof. Dra. Iêda Maria Vargas Dias  
 Coordenadora – CEP/UFJF

<b>RECEBI</b>
DATA: <u>16/05/2011</u>
ASS: 

**ANEXO E - Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética da UFJF****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Avaliação de marcadores inflamatórios em tabagistas em tratamento para abstinência

**Pesquisador:** HENRIQUETA VIEIRA VAN KEULEN

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 26318914.0.0000.5147

**Instituição Proponente:** FACULDADE DE MEDICINA - UFJF

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio  
Universidade Federal de Juiz de Fora UFJF  
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 566.857

**Data da Relatoria:** 20/03/2014

**Apresentação do Projeto:**

Apresentação do projeto esta clara e detalhada de forma objetiva. Descreve as bases científicas que justificam o estudo.

**Objetivo da Pesquisa:**

Apresenta clareza e compatibilidade com a proposta de estudo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Identificação dos riscos e as possibilidades de desconfortos e benefícios esperados, estão adequadamente descritos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O projeto está em configuração adequada e há apresentação de declaração de infraestrutura e de

**Endereço:** JOSE LOURENCO KELMER S/N  
**Bairro:** SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900  
**UF:** MG **Município:** JUIZ DE FORA  
**Telefone:** (32)2102-3788 **Fax:** (32)1102-3788 **E-mail:** cep.propesq@ufjf.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
JUIZ DE FORA/MG



Continuação do Parecer: 566.857

concordância com a realização da pesquisa, assinada pelo responsável da instituição onde será realizada a pesquisa. Apresentou de forma adequada o termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa.

**Recomendações:**

Apresentar resumo do relatório final ao CEP.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS, segundo este relator, aguardando a análise do Colegiado. Data prevista para o término da pesquisa:20/04/2014.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12, manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

JUIZ DE FORA, 25 de Março de 2014

---

**Assinador por:**  
**Paulo Cortes Gago**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** JOSE LOURENCO KELMER S/N  
**Bairro:** SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900  
**UF:** MG **Município:** JUIZ DE FORA  
**Telefone:** (32)2102-3788 **Fax:** (32)1102-3788 **E-mail:** cep.propesq@ufjf.edu.br