

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA

**VANESSA ARGONDIZO DOS SANTOS**

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO Gln223Arg DO RECEPTOR**

**DA LEPTINA COM ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E**

***STATUS* TABÁGICO**

Porto Alegre  
2007

**VANESSA ARGONDIZO DOS SANTOS**

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO Gln223Arg DO RECEPTOR DA  
LEPTINA COM ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E *STATUS*  
TABÁGICO**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestrado, pelo Programa de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

**ORIENTADOR: Dr. JOSÉ MIGUEL CHATKIN**  
**CO-ORIENTADORA: Dra. DENISE CANTARELLI MACHADO**

Porto Alegre  
2007

#### **DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)**

S237a Santos, Vanessa Argondizo dos  
Associação do polimorfismo Gln223Arg do receptor de leptina com índice de massa corporal e status tabágico / Vanessa Argondizo dos Santos; orient. José Miguel Chatkin; co-orient. Denise Cantarelli Machado. Porto Alegre: PUCRS, 2007.  
xiv, 90f.: il. tab.

Dissertação(Mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de concentração: Clínica Médica .

1. POLIMORFISMO GENÉTICO. 2. LEPTINA. 3. RECEPTOR DA LECITINA. 4. TABAGISMO. 5. ÍNDICE DE MASSA CORPORAL. 6. RECEPTORES DA SUPERFÍCIE CELULAR. 7. ESTUDOS TRANSVERSAIS. 7. EPIDEMIOLOGIA DESCRITIVA. I. Chatkin, José Miguel. II. Machado, Denise Cantarelli. III. Título.

C.D.D. 613.85  
C.D.U. 613.84:541.7(043.2)  
N.L.M. WM 290

VANESSA ARGONDIZO DOS SANTOS

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO Gln223Arg DO RECEPTOR DA  
LEPTINA COM ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E *STATUS*  
TABÁGICO**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestrado, pelo Programa de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Aprovada em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA:

---

Dr. Luiz Carlos Bodanese - PUCRS

---

Dra. Clarice Sampaio Alho - PUCRS

---

Dra. Marli Maria Knorst - HCPA

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, aos meus **pais** e **avó** por terem me proporcionado o acesso ao ensino superior de qualidade.

À **Dra. Denise Cantarelli Machado**, co-orientadora deste trabalho, que desde a minha iniciação científica durante a graduação até o presente momento mostrou-se empenhada em contribuir com a minha formação. Obrigada Denise pela confiança depositada em mim, além dos ensinamentos que foram imprescindíveis não só para a execução deste trabalho como também para minha vida.

A todos os integrantes do Laboratório de Biologia Celular e Doenças Respiratórias, localizado no Instituto de Pesquisas Biomédicas - IPB, em especial aos queridos colegas de profissão **Christian Viezzer** e **Gustavo Barbosa** pelos primeiros ensinamentos em pesquisa e pela amizade.

Ao **Dr. José Miguel Chatkin**, orientador deste trabalho, que sempre se colocou à disposição para elucidar minhas dúvidas e que contribuiu de forma ativa na elaboração deste projeto através de suas construtivas observações. Obrigada Dr. Chatkin pela oportunidade de conclusão de mais um “degrau” da minha carreira profissional.

Ao **PROBOLSA** da **PUCRS** que me disponibilizou uma bolsa para cursar o mestrado sem a qual não poderia tê-lo feito.

À **Maria Eloá Coimbra**, secretária do Dr. Chatkin, e à **Sônia Mantovani**, secretária da Pós-graduação da Medicina, pela atenção, pelo empenho em solucionar problemas, e é claro pela simpatia e amizade.

Ao **Dr. Mário Wagner** pela análise estatística dos dados deste trabalho e pela paciência nos tantos encontros.

Aos **voluntários** do estudo e aos **funcionários** do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS.

Não poderia deixar de agradecer ao meu namorado **Eduardo** pelo carinho, companheirismo e atenção, e, sobretudo, pela paciência.

“Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho e sobre ele lança toda a força de sua alma, todo o universo conspira a seu favor”.

**Goethe**

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Estudos comprovando os malefícios do fumo têm sido amplamente difundidos como forma de combate à adição. Mas existe grande dificuldade para sua cessação. Um dos fatores é o ganho de peso decorrente deste ato. Estudos de polimorfismos no gene do receptor da leptina sugerem a associação dos mesmos à composição corporal e à distribuição da gordura no corpo; mas tal mecanismo ainda não está bem definido quando a variável *status* tabágico é incluída.

**OBJETIVO:** Verificar a associação entre *status* tabágico, IMC e o polimorfismo LEPR Gln223Arg.

**MÉTODOS:** Foram selecionados 742 voluntários no banco de sangue da cidade de Passo Fundo, RS. Os participantes respondiam a um questionário e coletava-se uma amostra de sangue. Após foi feita a extração do DNA, seguido da técnica de reação em cadeia da polimerase, e, para a genotipagem, a técnica de polimorfismos de tamanhos de fragmentos de restrição com endonuclease de restrição. Para as análises, utilizou-se o teste qui-quadrado de Pearson, com significância de 5%.

**RESULTADOS:** Foi constatada associação positiva entre o polimorfismo Gln223Arg do LEPR, IMC e *status* tabágico em obesos com o genótipo Arg/Arg. Não foi verificada associação entre o polimorfismo Gln223Arg do LEPR e IMC. Não houve associação entre o polimorfismo Gln223Arg do LEPR e *status* tabágico.

**CONCLUSÃO:** Estes achados sugerem que nos indivíduos com IMC maior ou igual a 30 kg/m<sup>2</sup>, o tabagismo se distribui de forma diferente conforme o polimorfismo Gln223Arg do LEPR, sendo os obesos com o genótipo Arg/Arg os que tiveram maior proporção de fumantes ( $P = .03$ ).

**Palavras-chave:** Polimorfismo genético. Receptor da leptina. Tabagismo. Índice de massa corporal.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Studies which verify the badness of cigarette smoking have been widely diffused as a way to fight against this addiction. Even so, there is a large difficulty for cessation. The weight gain can be considered one of the factors resulted from the cessation. Polymorphism studies in the leptin receptor gene suggests an association of them to body composition and body fat mass; but this mechanism is not well defined yet when the variable smoking status is included.

**OBJECTIVE:** Verify an association between smoking status, body mass index and the LEPR Gln223Arg polymorphism.

**METHODS:** Seven hundred and forty two volunteers had been selected on the blood bank in Passo Fundo city, RS. The participants answered a questionnaire a sample of blood. After that, it have been done the DNA extraction, followed the polymerase chain reaction technique, and, for genotyping, the technique of restriction fragment length polymorphisms with restriction enzyme. For the analyses was used the Pearson qui-square test, with 5% of significance.

**RESULTS:** It has been checked a positive association between the LEPR Gln223Arg polymorphism, BMI and smoking *status* in obeses with the Arg/Arg genotype. It was not verify an association between the LEPR Gln223Arg polymorphism and BMI. It didn't have an association between the LEPR Gln223Arg polymorphism and smoking *status*.

**CONCLUSION:** These results suggests that in individuals with BMI higher or equal to 30 kg/m<sup>2</sup>, the distribution of tobaccoism comes in a diferent way according the LEPR Gln223Arg polymorphism, being the obeses with the Arg/Arg genotype the ones who have the highest proportion of smoking ( $P = .03$ ).

**Key-words:** genetic polymorphism. Leptin receptor. Tobaccoism. Body mass index.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 - Regulação da homeostase energética e do apetite. Adaptado de Gale <i>et al</i>(201).....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 2 - Os três polimorfismos descritos no gene LEPR: Lys109Arg, Gln223Arg, Lys656Asn, e suas respectivas trocas de nucleotídeos (A por G, A por G e G por C). Adaptado de Chung <i>et al</i>(241).....</b>	<b>26</b>
<b>Figura 3 - Visualização do produto da clivagem com enzima de restrição (<i>MspI</i>) para determinação do genótipo do gene LEPR após eletroforese em gel de agarose 3,5% e visualizado sob luz ultravioleta.....</b>	<b>39</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil da amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, em relação ao <i>status</i> tabágico.....	43
Tabela 2 - Freqüências alélicas e genotípicas do polimorfismo Gln223Arg do LEPR na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS.....	44
Tabela 3 – Freqüência do tabagismo na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificado por IMC.....	45
Tabela 4 – Freqüência do tabagismo na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificado por gênero e IMC.....	46
Tabela 5 – Freqüência de obesos na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, em relação ao polimorfismo Gln223Arg do LEPR.....	47
Tabela 6 – Freqüência de obesos na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificado por gênero e pelo polimorfismo Gln223Arg do LEPR.....	48
Tabela 7 - Prevalência de fumantes entre os genótipos do polimorfismo Gln223Arg do LEPR na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS.....	49
Tabela 8 - Freqüência do tabagismo na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificado por gênero e pelo polimorfismo Gln223Arg do LEPR.....	50
Tabela 9 – Proporção de tabagistas na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificados por IMC e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR.....	51

**LISTA DE SIGLAS**

<b>OMS</b>	<b>Organização Mundial de Saúde</b>
<b>EUA</b>	<b>Estados Unidos da América</b>
<b>NIH</b>	<b><i>National Institute of Health</i></b>
<b>FTDN</b>	<b><i>Fagerström Test for Nicotine Dependence</i></b>
<b>NHANES II</b>	<b><i>National Health and Nutrition Examination Survey II</i></b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	Gene da serotonina
5-HTT	Gene transportador da serotonina
A	Base nitrogenada adenina
AgRP e ASIP	Genes <i>Agouti</i>
Arg	Aminoácido arginina
CART	Transcrito regulado por cocaína e anfetamina
COMT	Enzima catecolamina-metil-transferase
CRH	Hormônio liberador de corticotropina
CYP	Enzima citocromo P-450
DA	Dopamina
DBH	Enzima dopamina-beta-hidroxilase
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DRD1-5	Genes receptores da dopamina
G	Base nitrogenada guanina
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GH	Hormônio do crescimento
GHRL	Grelina
Gln	Aminoácido glutamina
IMC	Índice de massa corporal
IMC≥30	IMC maior ou igual à 30 kg/m <sup>2</sup>
LEP	Gene da leptina
LEPR	Gene do receptor da leptina
MAO-A e MAO-B	Enzimas monoamino-oxidase
MC4R	Gene receptor da melanocortina 4
MSH	Hormônio estimulante de melanócito
nAChRs	Receptor nicotínico acetilcolina
NPY	Neuropeptídeo Y

<b>ObRb</b>	<b>Isoforma longa do receptor da leptina</b>
<b>PC1</b>	<b>Pró-convertase-1</b>
<b>PCR</b>	<b><i>Polymerase Chain Reaction</i></b>
<b>POMC</b>	<b>Pró-ópio-melanocortina</b>
<b>RFLP</b>	<b><i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i></b>
<b>SLC6A3</b>	<b>Genes transportadores da dopamina</b>
<b>TPH1</b>	<b>Enzima triptofano-hidroxilase-1</b>

**LISTA DE SÍMBOLOS**

<b>kg</b>	<b>Quilograma</b>
<b>M<sup>2</sup></b>	<b>Metro quadrado</b>
<b>mg</b>	<b>Miligrama</b>
<b>dl</b>	<b>Decilitro</b>
<b>ml</b>	<b>Mililitro</b>
<b>°C</b>	<b>Grau Celsius</b>
<b>rpm</b>	<b>Rotações por minuto</b>
<b>mM</b>	<b>Milimolar</b>
<b>µg</b>	<b>Micrograma</b>
<b>pmol</b>	<b>Picomol</b>
<b>µM</b>	<b>Micromolar</b>
<b>U</b>	<b>Unidade</b>
<b>pb</b>	<b>Pares de base</b>
<b>km<sup>2</sup></b>	<b>Quilometro quadrado</b>

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>3</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
2.1 EPIDEMIOLOGIA E ALGUNS MALEFÍCIOS DO TABAGISMO .....	5
2.2 NICOTINA.....	7
2.3 DETERMINANTES GENÉTICOS DO TABAGISMO .....	8
2.3.1 Genes envolvidos no metabolismo da nicotina .....	10
2.3.2 Genes Dopaminérgicos.....	11
2.3.3 Sistema Serotonérgico .....	13
2.3.4 Genes Colinérgicos Nicotínicos .....	13
2.4 TABAGISMO E VARIAÇÃO PONDERAL.....	14
2.4.1 Variação ponderal após cessação do tabagismo.....	16
2.4.2 Outros fatores associados à variação ponderal após cessação do tabagismo.....	17
2.4.3 Variação ponderal e reposição nicotínica.....	19
2.5 LEPTINA E RECEPTOR DA LEPTINA.....	21
2.6 POLIMORFISMO GLN223ARG DO RECEPTOR DA LEPTINA .....	26
2.7 LEPTINA E TABAGISMO .....	27
<b>3 HIPÓTESES DO ESTUDO.....</b>	<b>31</b>
<b>4 OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
4.1 OBJETIVO GERAL .....	32
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>5 PACIENTES E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
5.1 DELINEAMENTO.....	33
5.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	33
5.3 PERÍODO DA COLETA DOS DADOS.....	33
5.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO .....	34
5.5 ENTREVISTA .....	34
5.6 VARIÁVEIS ANALISADAS.....	34
5.6.1 Variáveis Demográficas .....	34
5.6.2 Variáveis relacionadas ao tabagismo.....	35
5.6.2.1 <i>Status</i> tabágico .....	35
5.6.2.2 Medição do grau de dependência nicotínica .....	36
5.6.3 Variáveis Antropométricas .....	36
5.6.4 Variável Genética .....	37
5.7 ANÁLISE LABORATORIAL.....	37
5.7.1 Extração do DNA.....	37
5.7.2 PCR (Polymerase Chain Reaction).....	38
5.7.3 Genotipagem do gene receptor da leptina .....	39
5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	40
5.9 ÉTICA .....	40

<b>6 RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
6.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA .....	41
6.2 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO POLIMORFISMO GLN223ARG DO LEPR .....	44
6.3 ASSOCIAÇÃO DO <i>STATUS</i> TABÁGICO E IMC.....	45
6.4 ASSOCIAÇÃO ENTRE IMC E O POLIMORFISMO GLN223ARG DO LEPR.....	46
6.5 ASSOCIAÇÃO ENTRE <i>STATUS</i> TABÁGICO E O POLIMORFISMO GLN223ARG DO LEPR .....	48
6.6 ASSOCIAÇÃO ENTRE <i>STATUS</i> TABÁGICO, IMC E O POLIMORFISMO GLN223ARG DO LEPR.....	50
<b>7 DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>8 CONCLUSÕES .....</b>	<b>57</b>
<b>9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>58</b>

## ANEXOS

<b>ANEXO A - Carta Informativa</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b>	<b>81</b>
<b>ANEXO C - Critérios do Hemopasso para doação de sangue</b>	<b>82</b>
<b>ANEXO D - Questionário – Entrevista</b>	<b>84</b>
<b>ANEXO E - Teste de Dependência Nicotínica de Fagerström</b>	<b>86</b>
<b>ANEXO F - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS</b>	<b>88</b>
<b>ANEXO G - Cidade de Passo Fundo</b>	<b>89</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O tabagismo é um dos mais importantes problemas de saúde pública, característico apenas da espécie humana. Apesar dos mais de 40 anos passados desde o primeiro documento governamental (*Surgeon General Report*)(1) sobre os prejuízos do fumo à saúde, o mesmo persiste como uma das principais causas preveníveis de morte no mundo.

Cerca de 1 bilhão e 300 milhões de pessoas no mundo(2) são fumantes, sendo os homens em maior porcentagem. Mas as estatísticas revelam o aumento do tabagismo entre as mulheres(3). No Brasil(4), a população fumante soma 16,7 milhões no gênero masculino e 11,2 milhões no feminino.

Campanhas anti-tabagismo e estudos comprovando os malefícios do fumo têm sido amplamente difundidos no mundo inteiro como forma de combate a adição. No entanto, ainda existem dificuldades para a cessação.

O comportamento tabágico é bastante variado quanto à sensibilização ou tolerância à nicotina, quanto à capacidade orgânica de sua metabolização, ao grau de intensidade da nicotino-dependência, a maior ou menor dificuldade de abandonar seu uso, ao momento mais precoce ou não de início, aos riscos de recaídas, entre muitas outras peculiaridades(5). Essa grande variabilidade fenotípica deve-se, provavelmente, aos polimorfismos genéticos(6-8) implicados nesse processo, assim como aos estímulos ambientais, hábitos pessoais e condicionamentos psicossociais(9).

Sabe-se que existe relação inversa entre o fumo e o peso corporal, e que o ato de parar de fumar, em geral, é acompanhado pelo aumento ponderal. Os tabagistas, em sua maioria, apresentam Índice de massa corporal (IMC) menor do que os não fumantes pareados para idade e sexo(10;11).

Em modelos experimentais, a administração da nicotina induz à redução do peso corporal por diminuição do apetite. Sabe-se que ela atua nos centros cerebrais que controlam a relação fome/saciedade, bem como nos hormônios do sistema digestório e tecido adiposo, como a leptina, que também participa ativamente nesta regulação(12;13).

Entretanto, a relação entre leptina sérica e tabagismo é contraditória existindo relatos de associação entre o fumo tanto com baixos, iguais e altos níveis de leptina

circulante(14-16). Volta-se então a atenção para os receptores da leptina nos centros cerebrais responsáveis pelo controle do apetite que podem modular sua ação(17).

É possível que a ação da nicotina compense deficiências na ligação da leptina ao seu receptor que podem ser causadas por variações genéticas. Assim, a variação do receptor da leptina teria papel significativo na fisiopatologia do sobrepeso, em ex-fumantes, e até mesmo na obesidade humana(18).

A relação entre genética e obesidade vem sendo investigada, e alguns genes já foram descritos em participar no processo da obesidade: o gene do receptor da melanocortina 4 (MC4R), os genes *Agouti* (AgRP e ASIP), o gene da pró-ópio-melanocortina (POMC), o gene da pró-convertease-1 (PC1), e o gene da leptina (LEP) e o do seu receptor (LEPR)(7;19;20).

O LEPR possui o polimorfismo Gln223Arg que é uma substituição de uma base nitrogenada: adenina por guanina. Esta alteração da proteína formada altera a conformação do receptor e, com conseguinte, suas características funcionais, prejudicando a ligação leptina-receptor no cérebro(21).

Este polimorfismo já foi relacionado ao IMC, sobrepeso e obesidade(17), mas a interferência do tabagismo nesta relação permanece inconsistente. A inter-relação complexa destes fatores dificulta a compreensão dos mecanismos envolvidos entre tabagismo e variação ponderal.

Assim, o presente estudo tem como objetivo principal contribuir no entendimento da possível associação entre *status* tabágico, IMC e o polimorfismo LEPR Gln223Arg, tendo em vista potencializar eventualmente o sucesso no tratamento para a cessação do fumo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 EPIDEMIOLOGIA E ALGUNS MALEFÍCIOS DO TABAGISMO

Estima-se que 1/3 da população adulta mundial sejam fumantes(22). De maneira geral, aproximadamente 47% de toda a população masculina e 12% da população feminina mundial(23) são fumantes, mas nos países em desenvolvimento a proporção de mulheres que fumam chega 24%.

O tabagismo vitima cerca de 4,8 milhões de pessoas/ano sendo 2,7 milhões em idade produtiva (30-69 anos de idade) resultando em um número substancial de anos perdidos com a morte prematura(24). Segundo perspectivas da Organização Mundial da Saúde (OMS) as estimativas só tendem a aumentar: está previsto para o ano 2030 mais de 10 milhões de vítimas de doenças associadas ao tabagismo(25).

O estudo dos efeitos globais do tabagismo em relação ao número de mortes no ano 2000 apontou maior número de mortes tabaco-relacionadas nos países em desenvolvimento comparado com os países desenvolvidos sendo 84% dos indivíduos homens. As causas de morte com maiores prevalências foram doenças cardiovasculares (1,7 milhões de mortes), doença pulmonar obstrutiva crônica (pouco menos que 1 milhão de mortes) e câncer de pulmão (cerca de 850 mil mortes)(26).

No Brasil(4), em torno de 24% da população é fumante. As características mais comuns neste grupo são: indivíduos de nível sócio-econômico baixo, gênero masculino, faixa etária de 20 a 49 anos. Porém este quadro vem se alterando. Os jovens iniciam cada vez mais precocemente o contato com o fumo, e o número de mulheres fumantes está aumentando.

De acordo com os inquéritos epidemiológicos o tabagismo no Brasil(27), realizado em 2002 e 2003, entre pessoas residentes em 15 capitais brasileiras e no Distrito Federal, com 15 anos de idade ou mais, a prevalência de tabagismo variou de 12,9 a 25,2% nas cidades estudadas. Os homens apresentaram prevalências mais elevadas do que as mulheres, em todas as capitais. Em todas as capitais, a prevalência de consumo de cigarros foi maior entre os homens do que entre

mulheres. O consumo de cigarros foi maior entre indivíduos adultos (com 25 ou mais anos de idade) quando comparado aos de 15 a 24 anos. Entretanto, esta diferença tende a diminuir nas cidades mais urbanizadas, indicando uma maior participação do grupo jovem nas prevalências globais. É possível ainda observar que o tabagismo foi maior entre os grupos com menor escolaridade (menos de 8 anos de estudo), quando comparado com os de maior escolaridade (8 anos ou mais de estudo) em todas as cidades estudadas.

Na região Sul, a idade média de iniciação do fumo foi de  $12,8 \pm 2,1$  anos, sendo que 62% iniciaram na faixa de até 12 anos(28). As maiores proporções de fumantes foram encontradas em Porto Alegre: 28,2% no sexo masculino e 22,9% no feminino. Além disso, na capital gaúcha, a maior porcentagem de estudantes que já experimentaram cigarros foi observada no sexo feminino (54,5%) e a proporção de fumantes atuais que fumaram mais de 100 cigarros na vida foi de 37%.

O estudo(29) foi realizado na cidade de Passo Fundo, RS, com 5.057 alunos de escolas públicas e privadas, entre os anos de 2001 a 2005, apontou prevalência de experimentação de tabaco de 36,2%, com idade de início variando entre cinco e 22 anos. Valor muito acima de outros estudos epidemiológicos do mesmo tipo(30;31). Essa prevalência chamou atenção dos autores, tendo em vista que Passo Fundo não é uma cidade produtora e industrializadora de fumo. Porém, pela sua localização geográfica torna-se um corredor de passagem para a entrada de fumo e outras drogas, advindas de regiões fumageiras e advindas de contrabando. Essa realidade pode estar influenciando a experimentação elevada e precoce, particularmente de fumo.

Apesar das inúmeras campanhas apontando para os malefícios do fumo, o tratamento ainda não é totalmente eficaz. Cerca de 80% dos fumantes desejam parar de fumar, mas apenas 3% conseguem a cada ano(32).

O tabagismo, antes visto como um estilo de vida é atualmente reconhecido como dependência química que expõe os indivíduos a inúmeras substâncias tóxicas. É um comportamento complexo que recebe influência de estímulos ambientais, hábitos pessoais, condicionamentos psicossociais e das ações biológicas das substâncias contidas no fumo, em especial, a nicotina(9). Esses estímulos podem ser de vários tipos, como os provenientes da publicidade, da facilidade de aquisição da droga pelos baixos preços dos cigarros, da aceitação social, do exemplo dos pais e de líderes fumantes, tendência pessoal a outras adições, à depressão, além da

hereditariedade. Esses fatores constituem o modelo que explica o comportamento aditivo(9).

O tabagista costuma passar por uma série de estágios: a iniciação, a experimentação, o uso regular, a dependência, a cessação, e a recaída(33). Embora os fatores citados acima influenciem o comportamento do indivíduo em relação ao tabagismo, a genética vem sendo investigada na tentativa de entender os mecanismos e inter-relações, e eventualmente minimizar os efeitos da abstinência ao fumo e aperfeiçoar o tratamento(34).

## **2.2 NICOTINA**

A nicotina é um alcalóide vegetal e sua fonte principal é a planta do tabaco. É uma droga de alta toxicidade e possui uma peculiaridade não encontrada em droga alguma: não é introduzida pura no organismo; ela necessita de um invólucro que é o tabaco, sob a forma de cigarro e outros assemelhados. Portanto, a nicotina é administrada ao organismo juntamente com milhares de substâncias tóxicas(35).

Já foram isoladas no cigarro cerca de 6.700 substâncias, das quais 4.720 bem identificadas quimicamente. O tabagista ao inalar a fumaça, com a nicotina da qual está dependente, inala juntamente, em média, 2.500 substâncias lesivas ao organismo(36).

Quando a nicotina é inalada com a fumaça do cigarro, leva cerca de 7 a 10 segundos para chegar ao cérebro, onde ocasiona efeitos diretos e libera uma variedade de neurotransmissores(37). Como é uma substância psicoativa, tem a propriedade de alterar o funcionamento do sistema nervoso central e provocar mudanças no humor, em funções cognitivas, afetivas e comportamentais.

A nicotina atravessa rapidamente a barreira hemato-encefálica e se une ao receptor nicotínico acetilcolina (nAChRs)(38;39). A ativação do receptor na área tegumentar ventral provoca um aumento da liberação de, por exemplo, dopamina no núcleo acumbens e estimulação do centro de recompensa do cérebro, o sistema mesolímbico(38), uma característica comum à maioria das drogas de abuso. A dopamina (DA) promove a sensação de prazer e diminui o apetite, enquanto outros neurotransmissores, como a serotonina, modulam o humor e diminuem o apetite, a

betaendorфина reduz a ansiedade e tensão, a acetilcolina promove o estado de alerta e melhora a cognição, a norepinefrina promove o estado de alerta e diminui o apetite, a vasopressina melhora a cognição, o glutamato melhora a memória, e o ácido gama-aminobutírico (GABA) reduz a ansiedade e tensão(9), entre outros.

Administrações repetidas de nicotina ao cérebro resultam em uma adaptação neuronal, como aumento no número de nAChRs(40-42), provocando dependência e tolerância, tanto que o uso descontinuado ou em menor dosagem da droga acarreta a síndrome da abstinência(43). Para prevenir estes efeitos, os fumantes regulam o uso da nicotina em relação aos níveis de nicotina no sangue e no cérebro(44).

Assim, os estudos têm focado nos neurotransmissores participantes de rotas compensatórias (utilizada pelas drogas) e aos do metabolismo da nicotina para avaliar o eventual papel da genética no tabagismo.

### **2.3 DETERMINANTES GENÉTICOS DO TABAGISMO**

A nicotina e outras substâncias contidas no tabaco são as responsáveis pelo desencadeamento da dependência químico-física do tabagista(35).

A indústria fumageira emprega no tabaco mais de 600 aditivos, para torná-lo mais palatável(45). Vários têm a função de liberar mais nicotina, como a amônia, fazendo com que haja aumento na concentração de DA.

Entretanto, existem fatores associados que estabelecem a dependência e seus graus de intensidade. As características fisiológicas, orgânicas, psicológicas, genéticas e comportamentais corroboram a afirmação.

Embora os aspectos hereditários já tenham sido sugeridos há mais de 40 anos, só mais recentemente, com o avanço das técnicas de biologia molecular, é que muitos aspectos começaram a ser desvendados(9).

Estudos com animais permitem examinar a influência biológica de genes específicos relacionados à dependência nicotínica. O primeiro modelo animal descrito foi o de uma linhagem de animais homozigóticos para todos os *loci* genéticos, sendo os indivíduos completamente idênticos. Morrison *et al*(46), Hatchell *et al*(47) e Robinson *et al*(48) evidenciaram que animais homozigóticos de diferentes linhagens diferem em relação aos efeitos comportamentais e fisiológicos da nicotina.

Estas diferenças suportam a hipótese de que fatores genéticos podem contribuir para os diferentes fenótipos de dependência nicotínica nos humanos.

O uso de animais *knock-out*, nos quais um gene específico é inativado ou alterado, possuem deficiências bioquímicas que podem revelar a função da proteína expressa pelo gene. Picciotto *et al*(49) demonstraram que a subunidade beta-2 do nAChRs pode mediar a propriedade de reforço da nicotina, enquanto que a subunidade alfa-7 foi considerada importante em mediar as ações da nicotina no hipocampo(50).

Outro modelo de engenharia genética é utilizar um segmento de ácido desoxirribonucleico (DNA) de um determinado organismo e introduzir em uma linhagem germinativa de outro produzindo um animal transgênico. Esta técnica permite examinar receptores específicos que podem mediar as propriedades aditivas da nicotina. Nabeshima *et al*(51) verificaram que em camundongos transgênicos que super-expressavam a enzima tirosina hidroxilase, que controla a síntese de DA, parecem ser menos sensível aos efeitos fisiológicos da nicotina. Entretanto, a manipulação dos genes pode produzir múltiplas mudanças fenotípicas inesperadas, o que limita a validação deste modelo e sua aplicabilidade em humanos.

Estudos com gêmeos investigam se existem determinantes genéticos na causa de doenças. Sullivan *et al*(52) resumiram os dados de inúmeros estudos relacionando gêmeos e genética do tabagismo. Observaram que a genética determina 56% da variação nos indivíduos em relação à iniciação ao fumo, e 67% da variação em relação à dependência nicotínica. Heath *et al*(53) e Madden *et al*(54) também relataram influências significativas da genética sobre a idade de iniciação e manutenção da adição, respectivamente.

Com relação ao tabagismo, esse tipo de estudo demonstra que se a proporção de concordância de gêmeos monozigóticos para uma determinada característica for maior que a proporção de gêmeos dizigóticos, é possível que os genes em estudo determinem a doença em questão. Se não houver diferença significativa na concordância é possível que a característica seja influenciada por fatores ambientais(55).

Fisher *et al*(56) foram os primeiros a reportar que a taxa de concordância em relação ao tabagismo é maior em gêmeos monozigóticos do que em dizigóticos, independentemente de terem sido criados juntos ou separados. Foi verificado também que filhos adotados apresentam similaridade de comportamento em relação

ao fumo com seus pais biológicos. Resultados similares foram detectados nos Estados Unidos da América, Escandinávia, Austrália, Grã-Bretanha e Japão(55;57;58). Na Escandinávia, foi encontrada associação entre os fumantes adotados e seus irmãos biológicos, e entre mulheres fumantes e suas mães biológicas e não com as adotivas, reforçando o papel da hereditariedade e diminuindo a importância relativa do meio ambiente nesse comportamento(59;60).

Hall *et al*(60) quantificaram essa concordância e compararam a influência ambiental e individual, concluindo que o componente hereditário pode ser responsável por 60 a 70% da manifestação deste caráter.

A partir da constatação de uma provável contribuição hereditária para adição tabágica, vários polimorfismos genéticos estão sendo estudados como possíveis responsáveis pelos diferentes fenótipos existentes em relação ao tabagismo, como diferenças em relação à iniciação ao fumo, à dependência nicotínica e à resposta terapêutica ao tratamento para a cessação(61). As principais linhas de investigação estão conectadas à produção, liberação ou ao transporte dos neuromediadores.

### **2.3.1 Genes envolvidos no metabolismo da nicotina**

Existem evidências de que o consumo de tabaco possa ser influenciado por variações genéticas(34).

Os fumantes tendem a ajustar o seu comportamento de modo a manter o nível de nicotina no cérebro. McMorro *et al*(44) verificaram que as diferentes formas de processamento da nicotina podem influenciar o seu consumo e exposição. MacLeod *et al*(62) constataram que indivíduos com uma tolerância aumentada à nicotina, devido à alta capacidade de metabolizar a droga, podem experimentar poucas reações adversas em seu primeiro contato e, portanto, terão uma grande propensão a continuarem fumando. Contrariamente, a baixa capacidade evidenciada em alguns indivíduos faz com que os mesmos fumem menos e que uma menor proporção se torne nicotino-dependente.

Polimorfismos nos genes responsáveis pelo metabolismo da nicotina podem ser responsáveis pela diversidade entre os indivíduos em relação à tolerância a

nicotina. Então, genes que estejam envolvidos no metabolismo da inativação da nicotina podem ser importantes no entendimento da dependência nicotínica(63).

No grupo de enzimas citocromo P-450 (CYP), em particular na enzima CYP2A6, que reduz nicotina em cotinina(64), ocorrem duas variantes do gene (CYP2A6\*2 e CYP2A6\*3) que foram associadas com diminuição da atividade enzimática. Tyndale *et al*(65) e Pianezza *et al*(66) demonstraram que essas variantes são possivelmente protetoras em relação a dependência do tabaco, já que estes indivíduos com estas variantes fumavam uma quantidade significativamente menor de cigarros por dia e apresentavam um aumento na probabilidade de parar de fumar. A enzima CYP2A6 obteve relação com o fumo somente nos indivíduos que possuíam alta capacidade de metabolizar a nicotina(67), mas os resultados são controversos nos que possuem baixa capacidade(68). Recentemente, Mwenifumbo *et al*(69) reportaram que a variante CYP2A6\*1B está associada com a alta capacidade de metabolizar a nicotina *in vivo*.

### 2.3.2 Genes Dopaminérgicos

O sistema dopaminérgico recebeu especial atenção dos pesquisadores devido a sua participação nos comportamentos aditivos(70), e em relação ao tabagismo, as propriedades compensatórias da nicotina já estão bem descritas(71-73).

O receptor da dopamina (D1-D5) possui 5 subtipos codificados pelo gene DRD1-5. Variantes, *Taq1* A1 e *Taq1* B1, do gene DRD2 foram associadas como sendo fator de risco para uma variedade de comportamentos relacionados ao tabagismo(71;74;75), dentre eles: maior consumo de cigarros(76), nunca ter fumado(77), e idade menor de iniciação ao fumo(78). Por sua participação nos comportamentos aditivos, o gene do DRD2 foi denominado de “gene da recompensa”. Comings *et al*(74) e Noble *et al*(71) verificam que indivíduos com o alelo A1 têm regulação deficiente da DA, e, portanto, podem encontrar um maior reforço em substâncias e comportamentos que aumentam a transmissão da mesma. Estudos(71;74;77) mostraram alta prevalência dos alelos A1 e B1 do receptor da

dopamina entre fumantes comparado com não fumantes. Bierut *et al*(75) não evidenciaram relação significativa entre tabagismo e DRD2.

Um estudo com o gene DRD4 identificou que a variante denominada alelo longo está associada com maior risco de ser fumante e menor tempo entre um cigarro e outro em relação à variante alelo curto(79). Também foi relacionado com tabagismo e depressão(80). Já os genes DRD1, DRD3 e DRD5 têm relação modesta com o comportamento tabágico(55).

O transportador da dopamina (SLC6A3) é uma proteína transmembrana importante na regulação da transmissão da dopamina(81). A variável SLC6A3-9 foi associada com desordens dopaminérgicas, e a variável SLC6A3-10 associada com níveis diminutos de dopamina(74;82). Lerman *et al*(58) demonstraram que a variável SLC6A3-9 é mais freqüente em não fumantes, e que fumantes possuidores deste genótipo iniciavam a fumar mais tardiamente e que ao cessar passavam um período maior sem o fumo comparado com indivíduos com a outra variável. Então, o gene transportador da dopamina parece não estar associado com a iniciação ao fumo, e sim com sua cessação/manutenção.

O gene que codifica a enzima tirosinaquinase, responsável pela síntese da DA, está relacionado com fumantes(83). No íntron 1 do gene, há mini-satélites denominados *HUMTH01-VNTR*. Polimorfismos nesta região afetam a expressão do gene(84). Adolescentes fumantes com quatro repetições (K4) são menos dependentes de nicotina que aqueles com uma, três ou cinco repetições (K1-K3-K5)(85). Lerman *et al*(86), verificaram que, em adultos, o alelo K4 não estava associado ao *status* tabágico, e sim com um menor consumo de cigarro.

A enzima dopamina-beta-hidroxilase (DBH), que converte dopamina em norepinefrina, está associada com o consumo de cigarro(87) e ao *status* fumante(75). Polimorfismos na enzima monoamino-oxidase A e B (MAO-A e MAO-B) também estão relacionados com o consumo de cigarro, mas os resultados são conflitantes em relação a sua associação com *status* tabágico(88-90).

A enzima catecolamina-metil-transferase (COMT), importante na degradação das catecolaminas, possui um polimorfismo identificado por Val108/158Met. Os indivíduos com o genótipo Val/Val têm a atividade da enzima aumentada em até quatro vezes comparado com os indivíduos de genótipo Met/Met(91;92). A menor atividade desta enzima parece ser um fator protetor contra o *status* fumante e dependência nicotínica(93).

### 2.3.3 Sistema Serotonérgico

A serotonina (5-HT) modula a liberação de dopamina e vem sendo envolvida no reforço à nicotina(94). Os níveis de serotonina aumentam pela administração de nicotina e diminuem na abstinência ao fumo(95;96).

O polimorfismo no gene transportador da serotonina 5-HTT atraiu atenções já que ele regula a magnitude e a duração da transmissão da serotonina. Um polimorfismo na região promotora gera as variantes longa (L) e curta (S)(97;98). A variante S reduz atividade transcricional do gene o que resulta na diminuição da expressão do 5-HTT e da captação da serotonina(55). Lerman *et al*(99) e Ishikawa *et al*(100) mostraram resultados conflitantes; os primeiros não verificaram diferença na distribuição do genótipo 5-HTT entre fumantes e não fumantes, e os últimos demonstraram associação da variável L e fumantes. Em contrapartida, Lerman *et al*(101) verificaram que fumantes homozigotos ou heterozigotos para a variante S eram mais dependentes de nicotina que os homozigotos para a variante L.

A enzima triptofano-hidrolilase-1 (*TPH1*), envolvida na síntese da serotonina, possui um polimorfismo 779C>A associado com a iniciação ao fumo, sendo que indivíduos com o genótipo Arg/Arg reportaram começar mais precocemente(86). Os indivíduos AC obtiveram os maiores índices de dependência nicotínica medidos através do Teste de Fagerström(102).

### 2.3.4 Genes Colinérgicos Nicotínicos

As propriedades psicoativas da nicotina resultam da união à ativação de nAChRs. Um estudo com homens chineses encontrou associação e dois polimorfismos (rs1044396 e rs1044397) com menores riscos de dependência nicotínica(103), mas em outra etnia não foi observado resultado semelhante(104).

A pesquisa da genética do tabagismo tem aumentado o entendimento da dependência nicotínica, mas o esclarecimento definitivo de quais polimorfismos estão primordialmente envolvidos ainda não está disponível(9). A recente descrição completa do genoma humano poderá ajudar a identificar marcadores genéticos que

predigam o risco do uso do tabaco e do conseqüente desenvolvimento de dependência nicotínica e, talvez, do surgimento de doenças ligadas a esse uso como a obesidade relatada após a cessação do fumo.

## **2.4 TABAGISMO E VARIAÇÃO PONDERAL**

O efeito do tabaco na inibição do apetite é um dos fatores que ditam o comportamento do tabagista, e o potencial ganho de peso subsequente a cessação pode prevenir as pessoas de cessar(105). Fumar para controlar o peso pode explicar a iniciação ao tabagismo, enquanto que ganhar peso ao cessar a adição pode explicar sua manutenção e a dificuldade de parar.

O controle do apetite é feito por múltiplas rotas de sinalização que continuamente promovem o equilíbrio entre consumo energético e gasto calórico(106). Os centros cerebrais que fazem a regulação do apetite/saciedade estão sob a regência de fatores intrínsecos como: hormônios secretados pelo tecido adiposo (LEP), estômago (GHRL)(107) e pâncreas (insulina)(108), neurotransmissores (serotonina e DA(105)), e neuropeptídeos (anorexigênicos e orexigênicos(7)). Estes fatores podem sofrer influência da nicotina, já que se conhece sua ação na expressão de muitas classes de neurotransmissores presentes nas regiões hipotalâmicas.

A leptina é responsável pelo controle da ingestão alimentar, atuando em células neuronais do hipotálamo no sistema nervoso central(109). A leptina reduz o apetite a partir da inibição da formação de neuropeptídeos relacionados ao apetite, como o NPY, e também do aumento da expressão de neuropeptídeos anorexígenos como o MSH e CRH(110). Assim, altos níveis de leptina reduzem a ingestão alimentar enquanto que baixos níveis induzem hiperfagia. A relação do hormônio com o tabagismo é controversa na literatura, existindo relatos de níveis séricos elevados de leptina nos fumantes(14;111;112), assim como níveis diminuídos(113-115) e a não relação das variáveis(116-118).

O hormônio grelina é um potente estimulador da liberação do GH, nas células somatotróficas da hipófise e do hipotálamo. Estudos em modelos animais indicam que esse hormônio desempenha importante papel na sinalização dos centros

hipotalâmicos que regulam a ingestão alimentar e o balanço energético(119). Ukkola *et al*(120) com roedores sugerem que a GHRL, administrada periféricamente ou centralmente, diminui a oxidação das gorduras e aumenta a ingestão alimentar e a adiposidade. A GHRL está diretamente envolvida na regulação a curto prazo do balanço energético. Níveis circulantes de grelina encontram-se aumentados durante jejum prolongado e em estados de hipoglicemia, e têm sua concentração diminuída após a refeição ou administração intravenosa de glicose(121). A associação entre os efeitos anorexigênicos da nicotina e as propriedades orexigênicas deste hormônio foi estudada em uma amostra composta por homens fumantes(122). Como conclusão a concentração plasmática do hormônio não diferiu em relação ao *status* tabágico. O fumo não provocou alterações nos níveis séricos de grelina, mas induziu um declínio nos não fumantes. Se o efeito anorexigênico do fumo é induzido pela mesma, este efeito pode estar presente somente em pessoas não habituadas a exposição ao tabaco.

A serotonina exerce efeito sobre o apetite (modulando a sensação de fome e saciedade) e sobre o consumo de macronutrientes (gorduras, carboidratos e proteínas)(123). Em relação ao tabagismo, experimento com roedores verificou que a administração intraperitoneal de nicotina eleva seus níveis no cérebro e o apetite é diminuído(124). O aumento no consumo de carboidratos e açúcares após a cessação do tabagismo pode ser uma tentativa de reajuste dos níveis cerebrais de serotonina e melhora do humor. Spring *et al*(125) verificaram que aumentando os níveis de serotonina em ex-fumantes as alterações no humor e o ganho de peso podem ser prevenidos.

A rota mesolímbica da dopamina está envolvida nos efeitos compensatórios da nicotina(126), e na ativação neuronal em resposta ao fumo nas regiões do cérebro onde há alta concentração de DA(127). Cessar o fumo resulta na diminuição da atividade dos circuitos de recompensa(128), o que pode resultar na substituição do cigarro por alimentos para que assim a rota compensatória da dopamina seja estimulada. O aumento de peso está associado à cessação do fumo(129), primeiramente pelo aumento do apetite(130-132), e pelo consumo de alimentos extremamente calóricos e gordurosos(133;134).

O NPY é um potente estimulador do apetite(105) e é regulado pela leptina(110;135-137). Chen *et al*(138) verificaram a regulação do neuropeptídeo através da dieta e do fumo. Em ratos Sprague-Dawley submetidos à dieta altamente

calórica as concentrações do neuropeptídeo foram significativamente diminuídas após exposição prolongada da dieta hipercalórica e foi verificado aumento do apetite e peso. Nos camundongos Balb/c expostos ao cigarro o apetite diminuiu significativamente em relação aos não expostos, e em consequência tinham peso menor. A exposição crônica ao cigarro foi associada com a diminuição na concentração de NPY, sugerindo um efeito inibitório do tabagismo nos níveis cerebrais do neuropeptídeo. Assim, dieta hipercalórica e exposição ao fumo reprogramam NPY no hipotálamo, e a redução deste pode contribuir no efeito anorexigênico da nicotina.

#### **2.4.1 Variação ponderal após cessação do tabagismo**

É conhecido que os tabagistas que cessaram o fumo têm tendência a aumentar o peso corporal(14;112;139;140). Os estudos clínicos e epidemiológicos relatam que indivíduos fumantes pesam menos que os não fumantes, e que ganham peso quando param de fumar(141;142).

O uso da nicotina produz período de perda de peso (ou redução do ganho de peso), assim como a cessação do uso da droga leva a um período agudo de ganho de peso, seguido pelo retorno a níveis semelhantes aos observados nos controles(143).

O estudo *Healthy People 2010*(144) identificou que o uso do tabaco e a obesidade são focos prioritários no que se refere à saúde coletiva dos Estados Unidos da América (EUA). As duas prioridades compartilham uma relação: ao longo dos últimos 25 anos pesquisas documentaram alterações no peso corporal resultante da cessação do fumo(129;145;146). Em geral concluíram que a cessação do fumo está associada, com significativa diferença estatística, com o aumento do peso em abstêmios.

No estudo NHANES II(147) o ganho médio de peso corporal nos indivíduos que pararam de fumar foi de aproximadamente 5 a 6 kg; no entanto 13% adquiriram mais de 10 kg. Williamson *et al*(148) estimaram que o aumento médio do peso atribuído ao ato de parar de fumar nos homens era de 2,8 kg e nas mulheres de 3,8 kg. No *Lung Health Study*, mulheres e homens que pararam de fumar aumentaram

5,2 kg e 4,9 kg, respectivamente, no primeiro ano após a cessação; e um adicional de 3,4 kg e 2,6 kg nos anos seguintes. Neste estudo por volta de 1/3 dos ex-fumantes aumentaram mais do que 10 kg após 5 anos de cessação. A maioria dos ex-fumantes irá engordar em torno de 4-5 kg, mas 13% passarão essa faixa aumentando o peso em 11 kg ou mais(105;150-153).

Outros estudos revelam que o abandono do fumo resulta em aumento de peso corporal em mais de 75% dos adultos, sendo o período imediatamente após a cessação da adição o mais crítico(5;118;154). Foi concluído que há um considerável aumento de peso nas primeiras semanas após a cessação do fumo. Isto pode ser interpretado como uma resposta a cessação, ao passo que o aumento no IMC a longo prazo tem sido atribuído a características como gênero(146). Froom *et al*(155) e Perkins *et al*(156) afirmaram que o risco de aumento de peso se estende durante os dois primeiros anos após parar de fumar. Duncan *et al*(157) citam uma pesquisa realizada com japoneses ex-fumantes, que a diferença no IMC entre fumantes atuais e os abstinentes por 8-10 anos não foi significativa.

#### **2.4.2 Outros fatores associados à variação ponderal após cessação do tabagismo**

Características como idade, gênero, etnia, idade de iniciação ao fumo e quantidade de cigarros fumados ao dia também influenciam na variação ponderal do indivíduo após a cessação do fumo(154).

Fumantes pesam menos comparados com não fumantes ajustados para idade(16), e gênero(84;136;158;159). Estudos(3;10;16;147;153) demonstraram que fumantes na faixa etária de 30 anos e acima de 50 anos pesam menos que não fumantes, e estes são ao que ao cessar aumentam de peso. Em fumantes adultos, o ganho de peso é freqüentemente citado como um fator importante para a recaída(3;153), e diminui a intenção dos fumantes de cessar.

A idéia de que o cigarro ajuda a controlar o peso parece ser gênero-específica, sendo as mulheres as mais preocupadas e as que relatam fumar com este objetivo em relação aos homens(160). Klesges *et al*(161) e Mitchell *et al*(159) verificam em sua pesquisa que as mulheres fumantes têm maior pré-disposição ao

ganho de peso em situações de estresse após a cessação do fumo quando comparadas aos homens.

A relação tabagismo e peso também é influenciada pela quantidade de cigarros fumados por dia e a idade que começou a fumar. Os fumantes regulares (1 cigarro ou mais por semana) acreditam que fumar é uma estratégia para controlar o peso comparado aos fumantes experimentais (menos de 1 cigarro por semana)(162). Isto sugere que as propriedades de controle de peso do cigarro reforçam o comportamento tabagista.

Ao contrário dos estudos com fumantes acima dos 50 anos, a relação entre tabagismo e peso em fumantes jovens, que é quando se dá a iniciação ao fumo, é mínima. Klesges *et al*(11) examinaram a associação entre fumantes e peso em uma população jovem de militares e encontrou pequena diferença no peso de fumantes em relação aos não fumantes; e nenhuma diferença entre as mulheres. Em outro estudo, Cooper *et al*(163) verificaram a relação entre anos que o indivíduo fuma e alterações no peso após a cessação, e os voluntários foram acompanhados por um período de quatro anos seguidos. Verificou que a iniciação ao tabagismo está associada significativamente ao aumento de peso em adolescentes durante os dois anos seguintes; e jovens que fumaram por um período de três anos ou mais tiveram peso similar àqueles que nunca fumaram. Boles *et al*(164) e Cavallo *et al*(165) examinaram a associação entre idade e preocupação com o peso em três coortes de adolescentes (12-13, 14-15, 16-17 anos de idade) fumantes e verificou-se que os meninos mais jovens e as meninas na faixa etária limite foram os que mais acreditaram que fumar controla o peso.

John *et al*(166) concluíram em seu estudo que somente o número de cigarros fumados ao dia possa ser fator crucial em relação a sobrepeso e obesidade em homens que pararam de fumar. O ganho de peso atribuído a cessação do fumo está diretamente relacionado com o número de cigarros fumados ao dia em um estudo com homens com alto risco de morte para doenças coronárias(167). Bamia *et al*(168) revelaram que fumantes com índices acima da média para cigarros fumados ao dia possuem IMC elevado comparado aos fumantes com índices medianos e inferiores.

### 2.4.3 Variação ponderal e reposição nicotínica

Estudos em animais, e posteriormente em humanos, revelaram que a administração de nicotina diminui o apetite e conseqüentemente o peso(124;168-170), levando os pesquisadores a sugerir a hipótese de que a ação do cigarro sobre o peso possa ser mediada pela nicotina.

Estudos relacionados à variação de peso e a cessação da adição têm demonstrado que o aumento de peso pode ser evitado(171;172). Talcott *et al* realizaram um estudo com militares americanos em que fumantes, ao pararem de fumar durante o período de 6 semanas, tiveram alimentação regrada e atividade física programada. Não foi registrado ganho de peso significativo destes com relação aos militares que seguiram fumando.

Cessar o fumo sem terapia de reposição nicotínica é freqüentemente acompanhado pelo ganho de peso(148;149;174). Como conseqüência, algumas pessoas usam o fumo para perder ou manter o peso, e são relutantes a parar devido a preocupação em relação ao peso, especialmente os jovens(175) .

Evidências epidemiológicas sugerem que os benefícios à saúde associados a cessação do fumo excedem os danos do sobrepeso, mesmo que este sobrepeso varie entre 10-15 kg(176), mas Chinn *et al*(177) e Nilsson *et al*(178) em seus estudos relacionando ganho de peso ao cessar o fumo com função pulmonar e metabolismo da glicose respectivamente, relataram que os benefícios adquiridos após a cessação do fumo são máximos quando há o controle do peso.

A diminuição do peso nos tabagistas não oferece vantagens. O estudo Framingan(179;180) provou que, nos fumantes, o menor peso não impede a elevação da pressão arterial e do colesterol no sangue, que ficam acima daqueles que deixaram de fumar, independente da evolução do peso destes.

O emagrecimento perseguido pelos fumantes, não lhes garante vida mais longa. O contrário é constatado, como no estudo efetuado pelo *Second National Health and Nutritional Examination Survey*(147), nos EUA, e o realizado em 24 cidades da Inglaterra, da Escócia e do País de Gales, totalizando mais de 50 mil pessoas de ambos os sexos. A mortalidade nos tabagistas magros foi superior a dos não-fumantes magros ou gordos, porque os primeiros foram vitimados pelas doenças tabaco-relacionadas.

A administração de nicotina em animais e o fumo nos humanos estão associados com diminuição do peso corporal(166). De acordo com um estudo feito com animais a nicotina pode simultaneamente prolongar o período entre as refeições e diminuir a quantidade de alimento por refeição. Evidências revelam um aumento do gasto energético em fumantes tanto em descanso como praticando atividade física(181-184).

O tratamento farmacológico, com a terapia de reposição nicotínica, se mostra eficiente no controle do peso durante seu uso(129;157;184;185), mas assim que o tratamento é finalizado seus benefícios são suspensos. Assim, em mulheres que não conseguiam abandonar o fumo alegando aumento de peso, associaram à alimentação saudável o uso da goma de mascar de nicotina. A combinação dos dois obteve maior sucesso no tratamento para a cessação assim como redução na variação do peso(172), somente observado durante o tratamento com a reposição nicotínica. A suplementação de nicotina através de adesivos diminuiu o consumo calórico de maneira dose-relacionada resultando na diminuição do aumento de peso após a cessação do fumo(186).

A bupropiona tem sido uma terapia eficaz a favor da cessação do tabagismo, assim como ao ser combinada com os adesivos de nicotina. Em relação a variação ponderal em ex-fumantes tratados com bupropiona e placebo, Hays *et al*(187) e Jorenby *et al*(188) verificaram que houve menor aumento de peso nos indivíduos que receberam tratamento com reposição nicotínica (somente bupropiona ou combinada a adesivo de nicotina) comparado com os que receberam placebo.

Então, trabalhos com o objetivo de compreender os mecanismos envolvidos no ganho do peso em indivíduos que cessam de fumar têm sido cada vez mais desenvolvidos almejando minimizar o aumento do IMC, conseqüentemente uma das barreiras para o abandono do fumo é desfeita, e o risco das doenças crônicas associadas à obesidade é minimizado(177).

Como já citado, a nicotina e a leptina influenciam os centros cerebrais relacionados ao apetite/saciedade. Suspeita-se que a nicotina influencie os níveis plasmáticos da leptina, já que sua liberação pelos adipócitos é desregulada pelos componentes do cigarro(154). Mas a literatura descreve resultados conflitantes, demonstrando que este efeito talvez não esteja relacionado à leptina circulante propriamente dita, mas sim sobre os seus receptores cerebrais(7;17;189).

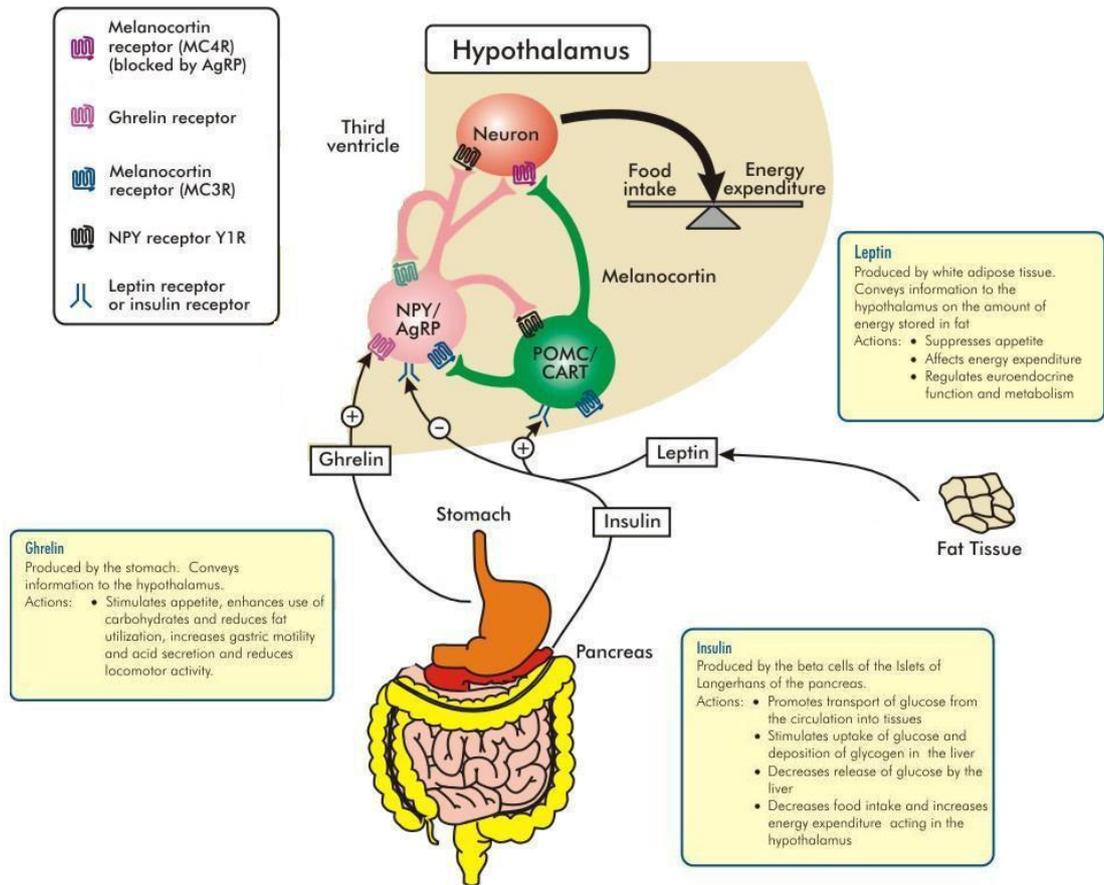
## **2.5 LEPTINA E RECEPTOR DA LEPTINA**

A clonagem do LEP e sua caracterização, por Friedman *et al*(190), representou um marco no conhecimento molecular do controle da gordura corporal em mamíferos(191). A leptina foi assim denominada (do grego *leptos* que significa magro) porque mostrou ser capaz de diminuir o peso corporal e o tecido adiposo quando injetado em camundongos. Assim, verificou-se que o hormônio regula o apetite e o balanço energético, e conseqüentemente a massa gorda e o peso corporal.

É um hormônio produto do gene *ob* que possui três exons, dois íntrons e é formado por 167 aminoácidos(189). Seus níveis circulantes no sangue indicam ao cérebro o *status* energético do organismo(192;193), e exerce papel central no mecanismo de *feedback* que mantém a homeostase energética(194;195).

Quando foi descoberta, pensava-se que a leptina fosse secretada exclusivamente pelos adipócitos(189;196). Mais tarde, o hormônio foi detectado, através da expressão do seu gene, em outros tecidos: no estômago(197), na placenta(198), no músculo esquelético(199) e no cérebro(194). Em ratos, houve a primeira de descrição da expressão do gene da leptina no cérebro, mais especificamente na pituitária(200).

O cérebro responde as alterações na homeostase energética pelo ajuste do apetite que é controlado por várias rotas de sinalização(106) (Figura 1).



**Figura 1 – Regulação da homeostase energética e do apetite. Reproduzido de Gale et al(201).**

A leptina liberada pelo tecido adiposo (indicador periférico do balanço energético) chega à corrente sanguínea, atravessa a barreira hematoencefálica e se liga ao seu receptor no hipotálamo(202). Esta ligação promove a liberação de hormônios/neurotransmissores catabólicos (anorexigênicos) ou anabólicos (orexigênicos)(174;195;203;204).

O aumento nos níveis séricos de leptina acarreta a expressão de hormônios/neurotransmissores anorexigênicos (POMC e CART – transcripto regulado por cocaína e anfetamina)(6), que diminuem o apetite e aumentam o gasto energético. Por outro lado, a diminuição nos níveis séricos de leptina leva à

expressão de hormônios/neurotransmissores orexigênicos (NPY e AgRP)(205) que aumentam o apetite e diminuem o gasto energético(203).

O NPY possui papel central nos mecanismos hipotalâmicos de controle do apetite(206). É um potente estimulador do apetite e é controlado também pelo hormônio grelina(207;208). Recentes estudos mostram que sinais opostos entre leptina e grelina regulam a secreção do NPY no hipotálamo(120). A grelina estimula o apetite no jejum através do aumento da motilidade estomacal e através da liberação de NPY(209), levando a um aumento do apetite e, posteriormente, dos adipócitos(210). Contrariamente, as propriedades anorexigênicas da leptina liberada após a alimentação, resultam na inibição da secreção de NPY(208). Os níveis de grelina estão inversamente correlacionados com IMC e, portanto, está diminuído em indivíduos obesos e aumentado naqueles com anorexia nervosa(211). Esses níveis baixos de grelina presentes na obesidade humana podem ser o resultado dos elevados níveis de leptina e insulina(210).

A primeira evidência da existência da relação entre as vias de sinalização da leptina e da insulina surgiu quando observou-se que o tratamento periférico com leptina era capaz de melhorar a hiperglicemia no camundongo *ob/ob* (obeso e hiperglicêmico por deficiência de leptina) independentemente da redução do peso(212). Com o progressivo acúmulo de conhecimento a respeito da ação hipotalâmica da insulina, suspeitou-se que também no hipotálamo a leptina e a insulina poderiam interagir e exercer efeitos complementares(213). Estudos subseqüentes confirmaram esta suspeita e revelaram que essa relação ocorre em pelo menos duas vias distintas, levando a resultados funcionais também distintos(214;215).

A primeira via é a JAK-2/STAT-3. Tanto a leptina quanto a insulina são capazes de induzir a ativação de JAK-2(216) e a fosforilação de STAT-3(217). Entretanto, somente a leptina, quando atuando isoladamente, é capaz de induzir transcrição gênica mediada por STAT-3. A insulina, agindo isoladamente, promove a fosforilação da STAT-3, mas esta fosforilação não resulta em aumento da transcrição gênica através desta via. Contudo, quando atuando em conjunto, a insulina potencializa a atividade transcricional de STAT-3 induzida pela leptina. Assim, conclui-se que, no hipotálamo, a via JAK-2/STAT-3 é controlada primariamente pela leptina, sofrendo uma modulação incremental pela insulina(213).

A segunda é a via IRS/PI3K(218). Como na via JAK-2/STAT-3, aqui também observa-se ativação molecular tanto pela leptina como pela insulina. Entretanto, estudos revelam que, neste caso, o efeito da insulina é predominante, promovendo maior ativação da PI3K, e conseqüentemente maior ritmo de disparos neuronais, e que neste caso a leptina desempenha um papel potencializador(219;220).

O fato de a leptina e a insulina exercerem controles predominantes sobre vias distintas tem implicações sobre o próprio padrão de regulação temporal da fome. A insulina tem efeito inibitório mais imediato sobre a fome enquanto a leptina tem efeito mais robusto, porém mais tardio. Atuando predominantemente sobre o ritmo de disparos, seria esperado que a insulina exercesse controle sobre fenômenos mais imediatos, ao passo que a leptina, controlando predominantemente a transcrição gênica, deveria coordenar fenômenos mais duradouros(20).

A leptina promoveu importantes avanços sobre o mecanismo de regulação do peso e sobre a fisiopatologia da privação alimentar que induz mudanças no metabolismo neuroendócrino(221). Contudo o mecanismo envolvendo a leptina e seu receptor no desenvolvimento da obesidade é mais complexo devido a interação de fatores genéticos, metabólicos e ambientais(222). Como é a sua ação no cérebro não está totalmente elucidada.

Seus níveis séricos se elevam quando há aumento dos adipócitos(223), e a redução do tecido adiposo com a perda de peso resulta na diminuição dos níveis séricos de leptina. No gênero feminino, a leptina é significativamente mais elevada quando comparada com a do gênero masculino de peso equivalente. Os hormônios reprodutores e a distribuição da gordura pelo corpo parecem contribuir para esta diferença(224). Esses resultados contrastam com o estudo de Ravussin *et al*(225) que identificaram nos indivíduos obesos baixos níveis de leptina, sendo estes mais propensos a ganhar peso comparado com os indivíduos com altos níveis de leptina.

A obesidade comum é caracterizada pelo aumento, e não pela diminuição, de leptina. Foi sugerido que obesos mórbidos possam ter resistência ao hormônio(198;226) visto que a deficiência de leptina por mutação do gene *ob* é rara na espécie humana(223;227;228). Muitos mecanismos podem contribuir para a resistência à leptina. A diminuição da sinalização do receptor da leptina causado pela mutação do receptor pode ser uma das explicações. Isto tem sido demonstrado no roedor *db/db*(189;229), e em casos graves de obesidade em humanos, os quais são homozigotos para a mutação no receptor da leptina(230).

A primeira demonstração da expressão do gene receptor da leptina foi comprovada logo após a descoberta da leptina(231). Mutações no receptor da leptina, contudo, são muito raras em humanos(14;232).

O receptor da leptina possui 6 isoformas que são variantes do mesmo gene presente no locus 1p31 (cromossomo 1 humano; Gene ID 3953), resultado de *splicing* alternativos(200;233;234). As isoformas têm os domínios extracelular e transmembrana constantes, além de os primeiros 2 aminoácidos do domínio citoplasmático. Baseado no tamanho do domínio intracelular, existe uma isoforma longa (ObRb) e as restantes são curtas(234). A isoforma longa é a principal responsável pela transdução do sinal da leptina já que ela contém o domínio funcional requerido à sua ação(216;235).

Elevados níveis de RNAm do receptor da leptina são expressos no hipotálamo, porém é no núcleo hipotalâmico, área envolvida na regulação da homeostase energética, que há enriquecimento dos receptores da leptina.

Como outros membros da família de receptores da classe I de citocinas(236;237), o ObRb (assim como os demais ObRs) não possui atividade catalítica intrínseca, sendo constitutivamente ligado a uma proteína citosólica com atividade tirosinaquinase chamada Janus quinase 2 (JAK-2)(238;239). A estimulação da atividade da leptina pela associação de ObRb e JAK-2 resulta na fosforilação de resíduos de tirosina (Tyr1138, Tyr1077, Tyr985)(219). Estes resíduos recrutam e ativam proteínas: ObRb Tyr 1138 ativa o fator de transcrição STAT-3 que por sua vez fará a regulação da transcrição do gene(7), ObRb Tyr 1077 promove o recrutamento de moléculas da família de transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs, predominantemente STAT-3) responsáveis por conduzir o sinal gerado pela leptina ao núcleo, onde coordenarão a transcrição de genes de neurotransmissores responsivos ao sinal hormonal(238); e ObRb Tyr 985 se une ao supressor de sinalização da citocina-3 (SCOS3) e inibem a sinalização do ObRb(212). Têm-se alterada a expressão dos neuropeptídeos hipotalâmicos(206;230).

## 2.6 POLIMORFISMO Gln223Arg DO RECEPTOR DA LEPTINA

O LEPR é altamente polimórfico, resultado de *splicing* alternativos em mais de uma região. Vários polimorfismos já foram descritos: Lys109Arg, **Gln223Arg**, Ser343Ser, Ser492Thr, Lys656Asn, Ala976Asp, e Pro1019Pro(223;240;241).

O polimorfismo Gln223Arg é a substituição de um único nucleotídeo: uma adenina por uma guanina, ocasionando a troca do aminoácido glutamina (Gln) pelo aminoácido arginina (Arg) na posição 223 da proteína do receptor(18;241)(Figura 2).

A troca do aminoácido decorrente do polimorfismo altera a forma do receptor e, por conseqüência, suas características funcionais, influenciando na ligação leptina-receptor(21;241); e também influencia a expressão do hormônio, possivelmente em nível transcricional e sua secreção nos adipócitos(182).

É considerado polimorfismo, porque a mutação ocorre com freqüência acima de 1% na população.



**Figura 2 – Os três polimorfismos descritos no gene LEPR: Lys109Arg, Gln223Arg, Lys656Asn, e suas respectivas trocas de nucleotídeos (A por G, A por G e G por C). Adaptado de Chung *et al*(241).**

Já que defeitos genéticos que resultem em obesidade são muito raros, é mais provável que a combinação de polimorfismos em um ou mais genes possam contribuir com seu desenvolvimento(244). Os polimorfismos mais estudados nos últimos anos são: a mutação Trp64Arg no gene do receptor adrenérgico B3 (ADBR3) está envolvido com obesidade e insulino-resistência(245); o polimorfismo Gln223Arg do LEPR está associado a fenótipos de obesidade(21;190;246); o polimorfismo 5-HTTLPR do gene do transportador da serotonina (5-HTT) está relacionado com distúrbios alimentares como anorexia e bulimia(247); e por último o polimorfismo

Arg972Gly do substrato – 1 do receptor da insulina (IRS-1) está associado a obesidade e o tipo 2 de diabetes em algumas populações(248). Mergen *et al*(244), entretanto, ao investigar a associação destes quatro polimorfismos, em uma população de obesos e não obesos na Turquia, não evidenciaram predisposição a obesidade.

Alguns estudos reportaram os níveis de leptina de acordo com as mutações no LEPR.

Mattevi *et al*(249) verificaram a influência da genética na obesidade em caucasianos. Investigaram os polimorfismos da leptina (A19G), do receptor da leptina (Gln223Arg) e do NPY (Leu7Pro) em relação ao IMC. Os resultados sugerem que a variabilidade genética no receptor da leptina e no NPY estivesse envolvida na regulação do peso corporal, e que a variante Gln223Arg do receptor da leptina associada ao IMC aumentado especialmente entre os não fumantes.

Quinton *et al*(21) verificaram que o alelo Gln223 está associado com elevado IMC, massa gorda e níveis séricos de leptina em mulheres caucasianas pós-menopausa, e as que possuíam o alelo 223Arg, a leptina tinha baixa afinidade com seu receptor comparado com mulheres com o alelo Gln223, sugerindo que este polimorfismo afeta a ligação entre os dois. Richert *et al*(249) sugeriram que o alelo diminuísse a atividade do receptor da leptina em resposta à leptina.

Em indivíduos com o genótipo 223Arg houve aumento na expressão do gene do receptor da leptina e elevação da leptina sérica(182;234;250). Van Rossum *et al*(222), Yannakouris *et al*(234) e Mattevi *et al*(17) também mostraram que indivíduos com o genótipo 223Arg têm altos níveis séricos de leptina e/ou elevado IMC. O polimorfismo foi positivamente associado com ganho de peso: aqueles que tinham os níveis plasmáticos de leptina mais elevados eram os que tinham o risco maior de ganhar peso.

Por outro lado, Paracchini *et al*(251) revelaram, através de meta-análise, que os três mais comuns polimorfismos do receptor da leptina K109R, Q223R e K656N, não estão associados à obesidade.

Esses resultados conflitantes podem ser explicados em parte pela diferença em relação ao *background* genético das populações estudadas

## **2.7 LEPTINA E TABAGISMO**

Desde que sabe-se que o cigarro gera efeitos sobre o apetite, gasto energético e metabolismo do tecido adiposo, especula-se a hipótese que os efeitos redutores do peso causados pelo fumo poderiam ser mediados pela leptina circulante. A princípio isto significaria dizer que os níveis de leptina estariam elevados nos fumantes comparados com não fumantes(107).

Assim como a leptina, a nicotina se liga a regiões relacionadas a regulação do apetite no hipotálamo, sugerindo que ações centrais mediadas pela nicotina possam contribuir na redução do apetite, perda de peso e aumento da termogênese(18;252;253). Se NPY é um possível alvo dos efeitos anorexigênicos da nicotina, os fumantes sentiriam menos fome devido a maior captação de leptina pelo seu receptor, diminuindo a liberação do NPY levando à sensação de saciedade. Frankish *et al*(254) e Li *et al*(13) demonstraram que injeções agudas (24 horas) e por um período maior (duas semanas) de nicotina diminuíram a expressão de NPY em ratos. Além disso, a distribuição dos receptores da leptina no hipotálamo se sobrepõe aos receptores nicotínicos, indicando mais uma possibilidade de ligação entre estes dois fatores(253).

A falta de reposição de nicotina em ex-fumantes poderia levar a diminuição dos receptores da leptina e, com isso, decrescer os efeitos inibitórios da leptina sobre o NPY, aumentando a produção deste, e por conseqüência, o apetite(255). Uma supressão na expressão do NPY pode ser esperada quando se inicia um tratamento com reposição nicotínica.

As bases neuromoleculares que regulam o apetite através do fumo estão em fase de pesquisa, mas a inter-relação entre apetite e tabagismo é complexa e exige maiores estudos(241). O fumante crônico pode elevar a leptina de várias maneiras. Fumar pode elevar a secreção e liberação da leptina pelo tecido adiposo, resultando em altos níveis de leptina circulantes(111); pode aumentar a lipólise do tecido adiposo através da maior atividade da lipase lipoproteica(256) pode exercer efeito indireto sobre a leptina, pela sua ação sobre a insulina, glicocorticóides, ou pelo sistema adrenérgico em si(113;257); e, finalmente, pode diminuir a sensibilidade do hipotálamo em relação a leptina, desregulando o *feedback* e resultando em um subseqüente aumento compensatório na produção de leptina(14).

Estudos relacionando leptina e tabagismo geraram resultados ambíguos. Nicklas *et al*(14) encontraram níveis plasmáticos elevados do hormônio em fumantes comparando com não fumantes ajustados pelo IMC, mas não acharam diferença entre cigarros fumados ao dia e peso. Idade, peso e IMC não variaram entre fumantes e não fumantes. Eliasson *et al*(112) reportaram que os níveis séricos de leptina estão elevados fumantes ou nos que utilizam reposição nicotínica com a goma de mascar em comparação com o grupo controle.

Por outro lado, estudos demonstraram níveis plasmáticos significativamente menores do hormônio em fumantes comparado aos não fumantes ajustados para IMC e idade(115;258;269). Reseland *et al*(15), Wei *et al*(115) e Donahue *et al*(113) reportaram que fumantes têm os níveis séricos de leptina diminuídos comparado com não fumantes. Isto é consistente com o conceito de que enquanto os fumantes têm níveis diminuídos de leptina por serem magros, o cigarro pode, independentemente, reduzir as concentrações séricas de leptina. Se fumar aumenta a sensibilidade da leptina pelo sistema de *feedback* controlado pela deposição de gordura, então os níveis de leptina devem diminuir(258).

Larsson *et al*(117) em sua pesquisa não evidenciaram diferenças nos níveis de leptina circulante com *status* tabágico. Outros estudos relataram não haver relação entre fumo e leptina nos homens(116;259).

Perkins *et al*(118) e Wei *et al*(115) verificaram que a leptina está significativamente associada com IMC em ambos os gêneros, controlado pelo IMC, indicando que os níveis de leptina estavam mais altos nas mulheres que nos homens, como o esperado. Fumar deve aumentar, e cessar deve diminuir, a quantidade de leptina se a mesma estiver envolvida na explicação de como o fumo reduz o peso e como cessar causa o aumento de peso. Fumar não parece influenciar diretamente a leptina de uma maneira clara que explique a associação entre fumar e menor peso corporal. Os fumantes não diferiram dos não fumantes ou ex-fumantes em relação aos níveis de leptina, antes de diminuir, a leptina aumentou somente nas mulheres e não diferiu nos homens após a cessação do fumo(118).

Essa variação pode ser explicada a diferenças entre os ensaios: gênero, etnia, idade e estado de saúde dos estudados. Eliasson *et al*(112) e Nicklas *et al*(14) estudaram somente homens fumantes de meia idade e mais velhos, enquanto que Donahue *et al*(113) estudaram um grupo de jovens fumantes Afro-americanos, Cuba-americanos e não-hispânicos de ambos os gêneros; e Hodge *et al*(258)

pesquisaram homens de uma região do pacífico (Nauru e Samoa). Mantozoros *et al*(259) estudaram soldados gregos e Wei *et al*(115) caucasianos, ambos os gêneros, mexicanos, americanos e hispânicos. Larsson *et al*(117), Lagiou *et al*(116) e Yoshinari *et al*(260), estudaram mulheres caucasianas pós-menopausa, homens gregos e com idade avançada, e homens japoneses de meia idade com diabetes tipo 2, respectivamente.

Poucos estudos(113) relataram existir relação inversa entre o número de cigarros fumados por dia e a leptina, novamente o oposto ao que se espera se fumar diminui o peso pelo aumento de leptina.

Por essas considerações, a regulação do apetite estaria sobre influência da leptina, ou do seu receptor, e possivelmente de outros agentes. Mas a relação entre tabagismo, leptina e peso ainda não estão totalmente esclarecidos.

### 3 HIPÓTESES DO ESTUDO

Com base no referencial teórico exposto, foram testadas as seguintes hipóteses:

**H<sub>0</sub> = Não existe associação entre *status* tabágico, IMC e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR.**

**H<sub>1</sub> = Existe associação entre *status* tabágico, IMC e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR.**

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a associação entre *status* tabágico, IMC e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

**4.2.1** Medir a prevalência de fumantes na amostra.

**4.2.2** Calcular as freqüências alélicas e genóticas do polimorfismo Gln223Arg do LEPR.

**4.2.3** Verificar se há associação entre o *status* tabágico e IMC.

**4.2.4** Verificar se há associação entre IMC e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR.

**4.2.5** Verificar se há associação entre *status* tabágico e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR.

**4.2.6** Verificar se há associação entre *status* tabágico, IMC e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR.

## **5 PACIENTES E MÉTODOS**

### **5.1 DELINEAMENTO**

O estudo proposto foi transversal e descritivo-analítico.

### **5.2 POPULAÇÃO E AMOSTRA**

O presente estudo foi conduzido em uma amostra de 742 voluntários de ambos os gêneros, com idade entre 18 e 65 anos, que freqüentaram o Hemocentro Regional da cidade de Passo Fundo (Hemopasso), RS. Os voluntários eram residentes deste local, e se dispuseram a responder a entrevista, doar sangue, ler e assinar a Carta Informativa (ANEXO A) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B) permitindo a utilização dos seus dados e amostra de sangue para fins de pesquisa.

### **5.3 PERÍODO DA COLETA DOS DADOS**

A coleta dos dados, entrevista e amostra de sangue dos voluntários ocorreram no período de outubro de 2004 a março de 2005.

## **5.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO**

Foram incluídos os voluntários que preencheram os critérios para doação de sangue (ANEXO C), e realizaram a mesma, no período de outubro de 2004 a março de 2005, no Hemopasso, RS.

Foram excluídos os indivíduos com presença de co-morbidades psiquiátricas (transtorno do pânico, transtorno obsessivo-compulsivo, alcoólatras, usuários de outras drogas, retardo mental e síndromes genéticas), analfabetos e em tratamento para depressão e/ou tabagismo (medicamentoso ou não); voluntários que foram impossibilitados de doar sangue, pelos critérios exigidos pelo Hemopasso, ou se recusaram a participar da pesquisa, assim como doadores com parentesco de primeiro e segundo graus, a fim de evitar viés de freqüência gênica.

## **5.5 ENTREVISTA**

Todos os voluntários foram submetidos a uma entrevista (após o consentimento) que fornecia informações sobre as características individuais (ANEXO D). As perguntas visavam classificar os indivíduos de acordo com as variáveis demográficas, variáveis relacionadas ao tabagismo (incluindo *status* tabágico e grau de dependência nicotínica) e variáveis antropométricas (peso e altura).

## **5.6 VARIÁVEIS ANALISADAS**

### **5.6.1 Variáveis Demográficas**

Foram analisadas as seguintes variáveis demográficas:

- Gênero.
- Idade atual (anos completos).
- Grupo racial (caucasiano ou não caucasiano).
- Escolaridade (ensino fundamental, médio ou superior).
- Trabalho (ativo, aposentado, ou auxílio doença/desemprego).
- Renda familiar (em salários mínimos).
- Etnia (caucasóide ou não caucasóide).
- Estado civil (com companheiro fixo ou sem companheiro fixo).

### 5.6.2 Variáveis relacionadas ao tabagismo

Foram analisadas as seguintes variáveis relacionadas ao tabagismo:

- *Status* tabágico (não fumante, fumante ou ex-fumante).
- Idade de início do uso do fumo.
- Tempo de uso do tabaco.
- Quantidade de cigarros fumados/dia.
- Teste de dependência nicotínica de Fagerström.

#### 5.6.2.1 *Status* tabágico

Os voluntários foram classificados quanto ao *status* tabágico segundo critérios do *National Institute of Health* (NIH)(261). Indivíduos não fumantes foram os que relataram nunca ter fumado ou que fumaram menos do que 100 cigarros ao longo de suas vidas. Indivíduos ex-fumantes foram os que relataram ter fumado mais de 100 cigarros durante suas vidas, mas que no momento não estavam fumando; e por último, os indivíduos fumantes foram os que relataram ter fumado pelo menos 100

cigarros durante suas vidas e que atualmente estavam fumando. Neste estudo, os não fumantes foram agrupados com os ex-fumantes devido aos últimos possuírem características relacionadas ao IMC mais próximas dos não fumantes.

### **5.6.2.2 Medição do grau de dependência nicotínica**

Para os voluntários classificados como fumantes foi aplicado o Teste de Fagerström(262) (FTDN – ANEXO E) que avalia o grau de dependência nicotínica. É um questionário constituído por seis (6) perguntas com alternativas para resposta. Cada alternativa corresponde a uma pontuação. Ao final foi somada a pontuação, que varia de 0 a 10, e uma tabela indica o grau de dependência nicotínica. Esta varia de muito baixa (menor pontuação) a muito alta (maior pontuação).

### **5.6.3 Variáveis Antropométricas**

Para realizar o cálculo do índice de massa corporal (IMC) foi utilizado o índice de Quetelet(263) no qual o peso, em quilogramas, é dividido pelo quadrado da altura, em metros ( $IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$ ). O resultado obtido foi verificado na tabela sugerida pela OMS(265): abaixo do peso os indivíduos que apresentaram índices de até  $18,49 \text{ kg/m}^2$ , peso normal os que apresentaram índice entre  $18,50 \text{ kg/m}^2$  a  $24,99 \text{ kg/m}^2$ , sobrepeso os que apresentaram índice entre  $25 \text{ kg/m}^2$  e  $29,99 \text{ kg/m}^2$ , e obeso os que apresentaram índice maior a  $30 \text{ kg/m}^2$ . O índice independe da idade e se aplica para ambos os sexos. Neste estudo o ponto de corte para o indivíduo ser classificado em obeso foi possuir IMC maior ou igual  $30 \text{ kg/m}^2$  ( $IMC \geq 30$ ), segundo critérios da OMS.

#### **5.6.4 Variável Genética**

Para a genotipagem dos indivíduos, primeiramente foi feita a extração do DNA a partir das células mononucleadas do sangue periférico dos doadores de sangue. A seguir foi realizada a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação do gene do receptor da leptina. Por último, a técnica de polimorfismos de tamanhos de fragmentos de restrição (RFLP), utilizando a enzima *MspI*, classificou os indivíduos de acordo com o polimorfismo genético em Arg/Arg, Gln/Arg ou Gln/Gln.

### **5.7 ANÁLISE LABORATORIAL**

O sangue para os testes laboratoriais foi coletado pelos funcionários do banco de sangue Hemopasso ao final da doação do sangue. Para o diagnóstico molecular do polimorfismo do gene, foram coletadas amostras de sangue de veia periférica pelo sistema de venoclise, com aparato descartável a vácuo (Vacutainer) e colocadas em tubos contendo EDTA 0,1% (volume final em concentração 1 mg/dl), em um total de 5 ml de sangue. Após a coleta o material foi mantido a 4°C por no máximo 24 horas entre a coleta e a extração do DNA. As amostras eram então encaminhadas ao Laboratório de Biologia Celular e Doenças Respiratórias pertencente ao Instituto de Pesquisa Biomédicas (IPB) localizado no Hospital São Lucas da PUCRS.

#### **5.7.1 Extração do DNA**

A extração do DNA foi realizada segundo a técnica descrita por Debomoy e Nurnberger Jr(265). O protocolo geral da extração seguiu as seguintes etapas: 1) as amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 5.000 rpm por 5 minutos; 2) após a centrifugação, transferiu-se a camada contendo leucócitos para tubos de 1,5

ml e realizou-se, a seguir, uma lavagem com PBS (tampão fosfato-salino, pH 7,5); 3) para a extração do DNA dos leucócitos (em 200 µl PBS) foi adicionado 1.000 µl de tampão de lise de hemácias seguido de centrifugação e descarte do sobrenadante; 4) novamente uma lavagem com PBS.

Após esta primeira etapa, foi seguido o protocolo de Chomczynski & Sachi(266;267) que utiliza o reagente Brazol (LGC Biotecnologia) para o isolamento do DNA a partir de amostras de células e tecidos 1) 600 µl de Brazol; 2) adição de 120 µl de clorofórmio; 3) centrifugação a 14.000 rpm por 10 minutos; 4) o sobrenadante transferido para outro tubo de 1,5 ml; 5) o DNA presente na porção aquosa foi precipitado pela adição de 0,1 volume de acetato de sódio e 0,7 volume de isopropanol e incubado a -20°C por 18 horas; 6) o DNA, observado como um sedimento translúcido e gelatinoso, foi dissolvido em 50 µl de água Milli-Q e mantido a -20°C para posterior uso na reação de amplificação gênica.

### 5.7.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)

A reação em cadeia da polimerase, ou PCR, foi executada de acordo com o método descrito por Gotoda *et al*(268), utilizando-se de oligonucleotídeos iniciadores específicos, com base na seqüência do banco de dados do GenBank nº U59251.

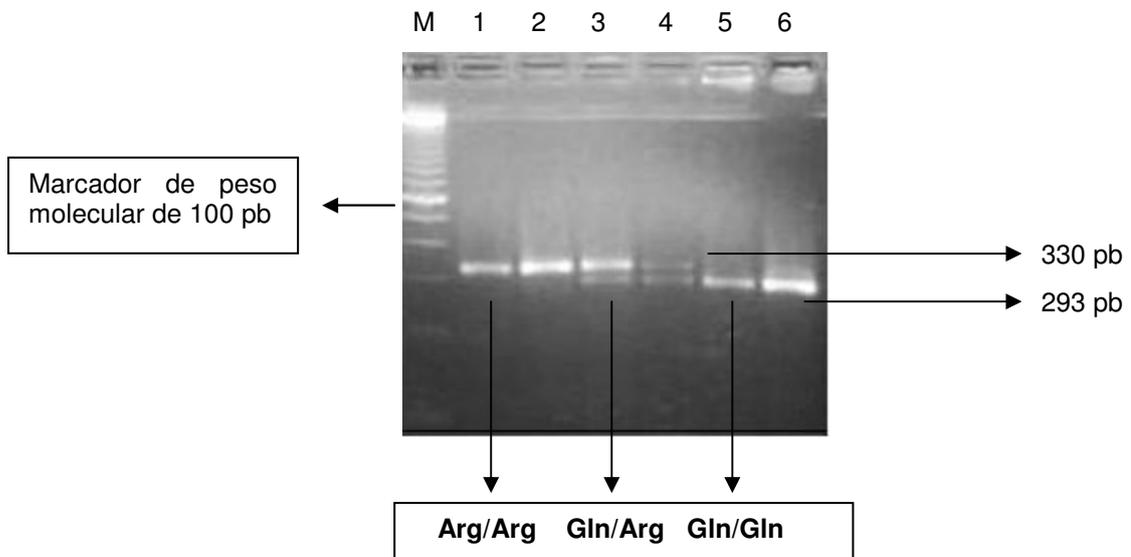
A reação foi constituída por 30 pmol dos oligonucleotídeos iniciadores direto 5'-ACCCTTTAAGCTGGGTGTCCCAAATAG-3' e reverso 5'-CAATATTTATGGGCTGAACTGACATT-3', 0,5 µl do DNA, 100 µM de dNTPs, 1,5 U de Taq DNA polimerase, 20 pmol de cada *primer* (direto e reverso), e 2,0 mM de MgCl<sub>2</sub>.

A mistura foi submetida aos seguintes ciclos no termociclador (PTC-200 Peltier Thermal Cycler – MJ Research Inc.): uma etapa desnaturação inicial de 95°C por 3 minutos, seguido de 40 ciclos constituídos pela desnaturação a 95°C por 1 minuto, anelamento à 60°C por 1 minuto, extensão à 72°C por 1 minuto; e finalmente uma etapa de extensão de 72°C por 10 minutos.

O produto amplificado contendo 330 pb foi visualizado após eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio, e observado sob luz ultravioleta.

### 5.7.3 Genotipagem do gene receptor da leptina

Na genotipagem utilizou-se a técnica de polimorfismos de tamanhos de fragmentos de restrição (RFLP – *Restriction Fragment Length Polymorphism*) através digestão do produto da PCR (10 µl) com 1U da endonuclease de restrição *Msp* I(269), de acordo ao especificado pela Promega(270), em tampão específico. A digestão foi incubada a 37°C por 6 horas. Os fragmentos gerados pela clivagem (330 pb, 293 pb e 37 pb) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 3,5% corado com brometo de etídio, utilizando-se um marcador de peso molecular de 100 pb, e visualizados sob luz ultravioleta. Os fragmentos de cada alelo foram analisados e identificados.



**Figura 3 – Visualização do produto da clivagem com enzima de restrição (*Msp*I) para determinação do genótipo do gene LEPR após eletroforese em gel de agarose 3,5% e visualizado sob luz ultravioleta.**

## **5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados demográficos da população foram obtidos com médias e desvios padrão, mediana (Amplitude Interquartil e mínimo à máximo), contagem (percentual), e com o teste qui-quadrado de Pearson para verificar significância. As freqüências alélicas e genotípicas do polimorfismo Gln223Arg do LEPR foram calculadas de acordo com o Princípio de Hardy-Weinberg(271), que possibilita verificar a distribuição do gene na população estudada. A significância estatística considerada foi 5%. A análise dos dados foi feita com o programa SPSS.

## **5.9 ÉTICA**

O estudo foi realizado após a apreciação e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS, com o protocolo de número CEP 06/03754, e seguiu as recomendações da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde que dita as normas e diretrizes regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos (ANEXO F). Os indivíduos participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Também foi obtida autorização da Secretaria Municipal de Saúde de Passo Fundo para a realização da pesquisa nas dependências do Hemopasso.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

A caracterização do perfil demográfico da amostra pode ser visualizada na Tabela 1, com os dados dos 742 indivíduos incluídos no estudo. Destes, 59,7% eram do sexo masculino ( $n = 443$ ). Ao estratificar o *status* tabágico por gênero, os não fumantes homens constituíram 58,6% ( $n = 332$ ) do total, e os fumantes homens 63,4% ( $n = 111$ ). Não foi observada diferença estatisticamente significativa ( $P = .29$ ) entre *status* tabágico e gênero.

A média da idade dos não fumantes foi 33,64 anos com desvio padrão de 10,28, e no grupo dos fumantes a média foi de 35,14 com desvio padrão de 11,73. Na houve diferença significativa ( $P = .12$ ) entre *status* tabágico e idade.

O grau de escolaridade mais freqüente tanto em não fumantes como em fumantes foi o ensino fundamental, sendo os valores 40,2% ( $n = 228$ ) e 52% ( $n = 91$ ), respectivamente. E esta variável se comporta de uma maneira diferente nos dois grupos, evidenciando que os indivíduos não fumantes possuem grau de escolaridade superior aos indivíduos fumantes na amostra ( $P = .02$ ).

Em relação à variável trabalho, 95,2% ( $n = 540$ ) dos não fumantes declararam-se estar ativos em comparação com 96% ( $n = 168$ ) dos fumantes, não havendo diferença estatística ( $P = .24$ ) entre os grupos.

A mediana da renda familiar foi 3 salários mínimos para ambos os grupos em relação ao *status* tabágico, sendo que a maioria da renda familiar dos indivíduos oscilava entre 2 a 5 salários mínimos. Não se constatou diferença estatisticamente significativa ( $P = .71$ ) entre renda familiar e *status* tabágico.

Cerca de 76% ( $n = 428$ ) dos indivíduos não fumantes possuíam etnia caucasóide em relação a 63,4% ( $n = 111$ ) dos indivíduos fumantes, pelo que se evidencia que a variável etnia se comporta de maneira diferente nos dois grupos em relação ao *status* tabágico ( $P = .004$ ).

O estado civil com maior freqüência relatada em ambos os grupos foi com companheiro fixo abrangendo cerca de 59,4% ( $n = 337$ ) do total de indivíduos não

fumantes e 59,4% (n = 104) de indivíduos fumantes. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre estado civil e *status* tabágico ( $P = .91$ ).

Então as características observadas com maior frequência na população de amostra foram: indivíduos não fumantes, do gênero masculino, com idade entre 33 à 35 anos, com o ensino fundamental, ativos, com renda de 3 salários mínimos, caucasóides, e com companheiro fixo.

As variáveis relacionadas ao tabagismo também estão descritas na Tabela 1. A média da idade de início do tabagismo foi de 17,15 anos com desvio padrão de 4,62. A mediana do tempo de uso do fumo pelos tabagistas foi de 10 anos, sendo que a maioria declarou tempo de uso do fumo dentro do intervalo de 4 a 22 anos. A mediana do número de cigarros fumados por dia foi de 10 cigarros por dia, sendo que a maioria dos fumantes oscilava o fumo de 3,75 a 20 cigarros por dia. A média da somada pontuação do teste de dependência nicotínica de Fagerström foi de 3,75 com desvio padrão de 1,69, valor que enquadra a maioria dos fumantes da amostra como tendo baixa dependência em relação à nicotina.

**Tabela 1 – Perfil da amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, em relação ao *status* tabágico.**

Variável	Status tabágico		Total (n)	P	
	Não Fumante (n = 567)	Fumante (n = 175)			
<b>Gênero*</b>					
	Masculino	332 (58,6)	111 (63,4)	443	.29
<b>Idade<sup>‡</sup></b>		33,64±10,84	35,14±11,73		.12
<b>Escolaridade*</b>					
	Fundamental	228 (44,8)	91 (56,2)	319	.02
	Médio	188 (36,9)	53 (32,7)	241	
	Superior	93 (18,3)	18 (11,1)	111	
<b>Trabalho*</b>					
	Ativo	540 (96,8)	168 (97,1)	708	.24
	Aposentado	13 (2,3)	5 (2,9)	18	
	Aux. Doença/desemprego	5 (9)	-	5	
<b>Renda familiar<sup>†º</sup></b>		3 (2 à 5)	3 (2 à 5)		.71
<b>Etnia*</b>					
	Caucasiano	428 (74,7)	111 (63,1)	539	.004
<b>Estado civil*</b>					
	Com companheiro fixo	337 (60,3)	104 (59,4)	441	.91
<b>IMC<sup>‡</sup></b>		25,68 (3,86)	25,65 (4,01)		.93
<b>Idade de início do fumo (anos)<sup>‡</sup></b>		-	17,15±4,62		
<b>Tempo de uso do fumo (anos)<sup>†</sup></b>		-	10 (4 à 22)		
<b>Número de cigarros/dia<sup>†</sup></b>		-	10 (3,75 à 20)		
<b>FTDN, pontuação<sup>‡</sup></b>		-	3,73±1,65		

Os dados são apresentados como contagem (percentual)\*, mediana<sup>†</sup> (Amplitude Interquartil e mínimo a máximo) ou média±DP<sup>‡</sup>. Teste qui-quadrado. Significância (P) de Pearson.

Renda baseada no valor do salário mínimo<sup>º</sup> = R\$ 375,00. FTDN: Fagerström Test for Dependence Nicotine.

Observação: o total de indivíduos das variáveis escolaridade e trabalho não somam o total da população devido a perdas no banco de dados.

## **6.2 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO POLIMORFISMO Gln223Arg DO LEPR**

As frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo Gln223Arg do LEPR são apresentadas na Tabela 2. O alelo Arg foi o mais freqüente (60,2%) na amostra investigada. Do total de indivíduos estudados, 14,2% (n = 105) apresentaram genótipo Gln/Gln, 51,2% (n = 380) o genótipo Gln/Arg e 34,6% (n = 257) o genótipo Arg/Arg.

A comparação entre as frequências genotípicas observadas e esperadas não apresentou diferença estatisticamente significativa ( $P = 0.10$ ), estando assim em equilíbrio de Hardy-Weinberg. As frequências genotípicas esperadas eram: 16% para o genótipo Gln/Gln, 48% para o Gln/Arg e 36% para o Arg/Arg.

**Tabela 2 – Frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo Gln223Arg do LEPR na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS.**

<b>Variável</b>	<b>%</b>	<b>P</b>
<b>Alelo</b>		
<b>Arg</b>	60,2	
<b>Gln</b>	39,8	
Total	100	
<b>Genótipo*</b>		
<b>Gln/Gln</b>	105 (14,2)	0.10
<b>Gln/Arg</b>	380 (51,2)	
<b>Arg/Arg</b>	257 (34,6)	
Total	742 (100)	

Contagem (percentual)\*. Teste qui-quadrado. Significância ( $P$ ) de Pearson.

### 6.3 ASSOCIAÇÃO ENTRE *STATUS* TABÁGICO E IMC

A freqüência do tabagismo na população de estudo em relação ao IMC foi de 23,6% (n = 175) como pode ser visto na Tabela 3. Dos 642 indivíduos com IMC menor que 30 kg/m<sup>2</sup>, 23,1% (n = 148) eram fumantes, e dos 100 indivíduos com IMC maior ou igual a 30 kg/m<sup>2</sup> 27% (n = 27) eram fumantes. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa ( $P = .42$ ) entre *status* tabágico e IMC.

**Tabela 3 – Freqüência do tabagismo na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificado por IMC.**

IMC*	<i>Status</i> tabágico		Total (n)	<i>P</i>
	Não fumante	Fumante		
IMC<30	494 (76,9)	148 (23,1)	642	.42
IMC≥30	73 (73)	27 (27)	100	
Total	567 (76,4)	175 (23,6)	742	

Contagem (percentual)\*. Teste qui-quadrado. Significância (*P*) de Pearson. IMC<30 kg/m<sup>2</sup>: classifica o indivíduo em não obeso. IMC≥30 kg/m<sup>2</sup>: classifica o indivíduo em obeso.

Ao estratificar *status* tabágico por gênero e IMC, como demonstrado na Tabela 4, verificou-se que nas mulheres o *status* tabágico não difere ( $P = .42$ ) entre as não obesas e obesas, assim como já demonstrado na Tabela 3.

Já nos homens, constatou-se um comportamento diferente entre o *status* tabágico e IMC. Os homens obesos tendem a fumar ( $P = .08$ ) fumam em maior proporção em relação aos homens não obesos. A prevalência de fumantes nas mulheres obteve média de 21,4% (n = 64) e nos homens foi de 25,1% (n = 111).

**Tabela 4 – Freqüência do tabagismo na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificado por gênero e IMC.**

Gênero*	IMC*	Status tabágico		Total (n)	P
		Não fumante	Fumante		
<b>Feminino</b>					
	<b>IMC&lt;30</b>	201 (77,6)	58 (22,4)	259	.42
	<b>IMC≥30</b>	34 (85)	6 (15)	40	
	Total	235 (78,6)	64 (21,4)	299	
<b>Masculino</b>					
	<b>IMC&lt;30</b>	293 (76,5)	90 (23,5)	383	.08
	<b>IMC≥30</b>	39 (65)	21 (35)	60	
	Total	332 (74,9)	111 (25,1)	443	

Contagem (percentual)\*. Teste qui-quadrado. Significância (P) de Pearson. IMC<30 kg/m<sup>2</sup>: classifica o indivíduo em não obeso. IMC≥30 kg/m<sup>2</sup>: classifica o indivíduo em obeso.

#### **6.4 ASSOCIAÇÃO ENTRE IMC E POLIMORFISMO Gln223Arg DO LEPR**

A Tabela 5 mostra a relação entre o IMC e os genótipos. Foi possível verificar que a distribuição do IMC entre os genótipos não foi estatisticamente diferente na população geral ( $P = .52$ ).

**Tabela 5 – Frequência de obesos na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, em relação ao polimorfismo Gln223Arg do LEPR.**

Genótipo*	IMC		Total (n)	<i>P</i>
	IMC<30	IMC≥30		
<b>Gln/Gln</b>	90 (85,7)	15 (14,3)	105	.52
<b>Gln/Arg</b>	334 (87,9)	49 (12,1)	380	
<b>Arg/Arg</b>	218 (84,8)	39 (15,2)	257	
Total	642 (86,5)	100 (13,5)	742	

Contagem (percentual)\*. Teste qui-quadrado. Significância (*P*) de Pearson.

Quando se estratifica IMC por gênero, como se pode verificar na Tabela 6, a distribuição deste entre os genótipos também não se mostrou significativa, apesar de as proporções entre não obesos e obesos, aparentemente, ser diferente da população geral demonstrada na tabela acima.

**Tabela 6 – Freqüência de obesos na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificado por gênero e pelo polimorfismo Gln223Arg do LEPR.**

Gênero*	Genótipo*	IMC		Total (n)	P
		IMC<30	IMC≥30		
<b>Feminino</b>					
	<b>Gln/Gln</b>	42 (93,3)	3 (6,4)	45	.16
	<b>Gln/Arg</b>	129 (87,7)	18 (12,3)	147	
	<b>Arg/Arg</b>	88 (82,3)	19 (17,7)	107	
	Total	259 (86,6)	40 (13,4)	299	
<b>Masculino</b>					
	<b>Gln/Gln</b>	48 (80)	12 (20)	60	.27
	<b>Gln/Arg</b>	205 (88)	28 (12)	233	
	<b>Arg/Arg</b>	130 (86,7)	20 (13,3)	150	
	Total	383 (86,5)	60 (13,5)	443	

Contagem (percentual)\*. Teste qui-quadrado. Significância (P) de Pearson.

### **6.5 ASSOCIAÇÃO ENTRE STATUS TABÁGICO E POLIMORFISMO Gln223Arg DO LEPR**

A prevalência de fumantes na amostragem em relação ao genótipo está demonstrada na Tabela 7. Indivíduos fumantes com o genótipo Gln/Gln somam 24,8% (n = 26), com o genótipo Gln/Arg somam 24,7% (n = 4), e com o genótipo Arg/Arg somam 21,4% (n = 55). O *status* tabágico não difere (P= .59) entre os três possíveis genótipos, ou seja, a distribuição do tabagismo nos genótipos Gln/Gln, Gln/Arg e Arg/Arg é semelhante.

**Tabela 7 – Prevalência de fumantes entre os genótipos do polimorfismo Gln223Arg do LEPR na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS.**

Genótipo*	Status tabágico		Total (n)	P
	Não fumante	Fumante		
<b>Gln/Gln</b>	79 (75,2)	26 (24,8)	105	.59
<b>Gln/Arg</b>	286 (75,3)	94(24,7)	380	
<b>Arg/Arg</b>	202 (78,6)	55 (21,4)	257	
Total	567 (76,4)	175 (23,6)	742	

Contagem (percentual)\*. Teste qui-quadrado. Significância (P) de Pearson.

Ao se estratificar *status* tabágico por gênero e genótipo como apresentado na Tabela 8, foi possível verificar uma tendência ( $P = .09$ ) do tabagismo a se distribuir de maneira diferente entre os genótipos e os gêneros. Mulheres e homens apresentaram significâncias  $P = .09$  e  $P = .15$ , respectivamente, diferentes as encontradas na população geral evidenciando variações entre os genótipos e entre os gêneros. Mulheres com o genótipo Gln/Gln são menos freqüentemente fumantes que mulheres com o genótipo Gln/Arg e Arg/Arg. Nos homens, o genótipo Gln/Gln possui maior proporção de fumantes em relação aos genótipos Gln/Arg e Arg/Arg, embora com  $P$  não significativo.

**Tabela 8 – Freqüência do tabagismo na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificado por gênero e pelo polimorfismo Gln223Arg do LEPR.**

Gênero*	Genótipo*	Status tabágico		Total (n)	P
		Não fumante	Fumante		
<b>Feminino</b>					
	<b>Gln/Gln</b>	40 (88,9)	5 (11,1)	45	.09
	<b>Gln/Arg</b>	109 (74,1)	38 (25,9)	147	
	<b>Arg/Arg</b>	86 (80,4)	21 (19,6)	107	
	Total	235 (78,6)	64 (21,4)	299	
<b>Masculino</b>					
	<b>Gln/Gln</b>	39 (65)	21 (35)	60	.15
	<b>Gln/Arg</b>	177 (76)	56 (24)	233	
	<b>Arg/Arg</b>	116 (77,3)	34 (22,7)	150	
	Total	332 (74,9)	111 (25,1)	443	

Contagem (percentual)\*. Teste qui-quadrado. Significância (P) de Pearson.

## **6.6 ASSOCIAÇÃO ENTRE STATUS TABÁGICO, IMC E POLIMORFISMO Gln223Arg DO LEPR**

A proporção de tabagismo em relação ao IMC e ao genótipo está descrita na Tabela 9. Verifica-se que a prevalência de fumantes nos indivíduos com IMC menor que 30 não possui variação significativa ( $P= .65$ ) entre os genótipos. Quando o IMC é maior ou igual a 30 kg/m<sup>2</sup>, observa-se que o padrão de distribuição dos tabagistas nos genótipos deste grupo é estatisticamente diferente ( $P= .03$ ) com indivíduos obesos com o genótipo Gln/Gln fumam mais freqüentemente que os indivíduos obesos com o genótipo Gln/Arg e Arg/Arg.

**Tabela 9 – Proporção de tabagistas na amostra pesquisada de doadores de sangue do Hemocentro regional Hemopasso da cidade de Passo Fundo, RS, estratificados por IMC e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR.**

IMC*	Genótipo*	Status tabágico		Total (n)	P
		Não fumante	Fumante		
<b>IMC&lt;30</b>					
	<b>Gln/Gln</b>	73 (81,2)	17 (18,8)	90	.65
	<b>Gln/Arg</b>	251 (75,2)	83 (24,8)	334	
	<b>Arg/Arg</b>	170 (78)	48 (22)	218	
	Total	494 (76,9)	148 (23,1)	642	
<b>IMC≥30</b>					
	<b>Gln/Gln</b>	7 (46,7)	8 (53,3)	15	.03
	<b>Gln/Arg</b>	34 (73,9)	12 (26,1)	46	
	<b>Arg/Arg</b>	32 (82,1)	7 (17,9)	39	
	Total	73 (73)	27 (27)	100	

Contagem (percentual)\*. Teste qui-quadrado. Significância (P) de Pearson.

## 7 DISCUSSÃO

Este trabalho constatou que, nos indivíduos com IMC maior ou igual a 30 kg/m<sup>2</sup>, o tabagismo se distribuiu de uma forma diferente conforme o polimorfismo Gln223Arg do LEPR, sendo os obesos com o genótipo Gln/Gln os que tiveram maior proporção de fumantes ( $P = .03$ ). Os voluntários com IMC menor a 30 kg/m<sup>2</sup> não apresentaram tal diferença, ou seja, a frequência de fumantes nos não obesos em relação aos genótipos foi semelhante ( $P = .65$ ).

A relação entre *status* tabágico e polimorfismo Gln223Arg do LEPR (genótipo) neste estudo não foi significativa ( $P = .59$ ) na população geral. Quando se estratificou em gênero, o padrão de distribuição do tabagismo nos genótipos, tanto nas mulheres como nos homens, também não houve diferença estatisticamente significativa ( $P = .09$  e  $P = .15$ , respectivamente), semelhante ao observado na população geral, apesar de haver possível tendência entre as mulheres.

Ao relacionar *status* tabágico e IMC na amostra em estudo não foi verificada diferença estatisticamente significativa ( $P = .42$ ), concluindo-se que a distribuição do tabagismo nos dois grupos do IMC, não obesos e obesos, foi semelhante. A literatura relata que existe relação inversa entre o fumo e o peso corporal, e que os tabagistas, em sua maioria, apresentam IMC menor do que os não fumantes pareados para idade e gênero(10;11). A explicação pode ser devido à amostra ser constituída por doadores de sangue (viés de seleção) e, portanto, parte-se do princípio que os participantes do estudo são pessoas saudáveis e jovens, representantes da população freqüente do banco de sangue, mas diferente da população geral na qual os estudos citados para comparação se baseiam.

Ao se estratificar por gênero, identificou-se que os homens obesos tenderam a fumar em maior proporção em relação aos homens não obesos, embora não significativamente ( $P = .08$ ), fato não encontrado nas mulheres que mantiveram o padrão verificado na amostra geral ( $P = .42$ ). Especula-se que isto seja atribuído ao fato dos obesos, além de possuírem compulsão pelo alimento, mantenham o mesmo comportamento em relação ao tabagismo.

As mulheres com o genótipo Gln/Gln do polimorfismo Gln223Arg do LEPR apresentaram proporção de fumantes menor que as mulheres com os genótipos

Arg/Gln e Arg/Arg. Já os homens com o genótipo Gln/Gln fumavam em maior proporção em relação aos outros genótipos. Há indícios de que o alelo Gln tenha significado diferente nos gêneros. Para as mulheres o genótipo Gln/Gln poderá ser um fator protetor para o fumo, e para os homens, o mesmo genótipo um fator de risco para a mesma variável.

As frequências calculadas para os alelos Gln (39,8%) e Arg (60,2%) foram diferentes às do estudo de Mattevi *et al*(17) (59,5% e 40,5%, respectivamente) fato que pode ser explicado pela amostra ser formada por uma população de descendência européia residente em Porto Alegre; e semelhante às encontradas por Quinton *et al*(21) (40% e 60%, respectivamente), que estudou mulheres caucasianas pós-menopausicas.

O genótipo Gln/Gln foi o menos freqüente em relação aos demais. A distribuição dos genótipos Gln/Gln (14,2%), Gln/Arg (51,2%) e Arg/Arg (36,4%) na população estudada se apresentou diferente às do estudo de Mattevi *et al*(17) que obteve frequências de 33,1% para Gln/Gln, 52,8% para Gln/Arg e 14,1% para Arg/Arg, mas foi semelhante aos de outros estudos (21;224) que apresentaram maior proporção de indivíduos Arg/Arg em relação à Gln/Gln. Todos os estudos citados possuíam populações em equilíbrio segundo Hardy-Weinberg.

A média do IMC na amostra foi de 25,7 kg/m<sup>2</sup> com desvio padrão de 3,9 kg/m<sup>2</sup>, classificando a população geral, segundo a OMS(264), sendo formada em sua maioria por indivíduos com sobrepeso. Não foi encontrada variação estatisticamente significativa entre IMC e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR ( $P = .52$ ). Mattevi *et al*(17), Wauters *et al*(225) e Gotoda *et al*(268) também não verificaram associação deste polimorfismo e IMC, apesar dos dois últimos estudos serem realizados em amostras constituídas por mulheres e homens obesos, respectivamente. Ukkola *et al*(272) verificaram o mesmo, apesar de existir uma tendência para maior peso nos indivíduos com o genótipo Arg/Arg. Na população em estudo, os indivíduos com o genótipo Arg/Arg também obtiveram proporção de obesos maior comparado com os outros genótipos, embora não significativo.

Já Quinton *et al*(21), Chagnon *et al*(245) e Yiannakouris *et al*(233) verificaram que indivíduos com o genótipo Gln/Gln e Gln/Arg possuem IMC significativamente maior comparado com indivíduos Arg/Arg. O primeiro obteve associação em uma amostra de mulheres pós-menopausa, o segundo somente verificou associação do alelo Gln com IMC nos homens; e o terceiro, em uma amostra constituída por gregos

jovens, verificou que indivíduos com o genótipo Gln/Gln eram os que possuíam IMC mais elevado em comparação com os outros genótipos do polimorfismo investigado.

Os dados são controversos na literatura e a comparação entre os estudos é prejudicada pela variação de etnia, gênero e idade das populações estudadas.

Relacionando-se o IMC com o polimorfismo Gln223Arg do LEPR estratificando para gênero, as mulheres com o genótipo Gln/Gln possuem tendência ( $P = .16$ ) a serem mais frequentemente não obesas que as com o genótipo Gln/Arg e Arg/Arg e nos homens, o genótipo Gln/Gln evidencia tendência ( $P = .27$ ) a maior proporção de obesos em relação aos com o genótipo Gln/Arg e Arg/Arg. Aparentemente, o alelo Gln pode ter efeito diferente entre os gêneros: nas mulheres seria fator protetor para a obesidade e para os homens fator de risco.

A descrição dos dados gerais da população amostrada, relatada a seguir, teve como objetivo fornecer informações sobre os indivíduos presentes no estudo, que poderá servir de instrumento de comparação para futuras pesquisas.

Neste trabalho, a prevalência de fumantes foi de 23,6%, valor próximos aos encontrados na cidade de Porto Alegre (25%) e na região sul (27,7%)(30) do país que possui maior índice de tabagismo. Ao estratificar por gênero, as mulheres obtiveram a média de 21,4% de fumantes em relação a 25,1% de homens fumantes, concluindo-se que os homens fumam em maior proporção que as mulheres, como já descrito na literatura(27).

O gênero mais freqüente na amostra foi o masculino tanto nos não fumantes (58,6%) como nos fumantes (63,4%), diferentemente ao encontrado na população do município (47%)(274). A explicação pode estar em dois critérios para a doação de sangue (ANEXO G): peso e hematócrito. O peso e o hematócrito baixos podem ser variáveis determinantes para as mulheres serem impossibilitadas de doarem sangue, pela própria constituição corporal feminina e devido à anemia ser mais freqüente neste gênero.

A média de idade da população ficou em torno dos 34 anos. Segundo dados do IBGE(273) esta faixa etária é a quarta com maior número de indivíduos precedida por 0-9, 10-19 e 20-29 anos de idade (ANEXO G). Isto é explicado por a amostra ser constituída de indivíduos doadores de sangue, não sendo permitido doadores menores de idade e acima dos 65 anos. Também é a explicação para a maioria dos indivíduos amostrados, tanto não fumantes (95,2%) como fumantes (96%), estarem ativos profissionalmente.

A distribuição da escolaridade nos indivíduos não fumantes e fumantes foi diferente. Os não fumantes possuem melhor grau de instrução que os fumantes, dado que corrobora o inquérito epidemiológico realizado no ano de 2003(27) nas principais capitais do país.

A renda da maioria dos indivíduos, em ambos os *status* tabágico, foi de 3 salários mínimos.

Em relação à etnia, os resultados mostram que os caucasianos foram encontrados em maior número tanto em não fumantes como em fumantes, fato corroborado pela região de estudo ter colonização principalmente ítalo-germânica(30). Entretanto, a distribuição da etnia nos não fumantes é estatisticamente diferente ( $P = .002$ ) nos fumantes. No primeiro grupo há maior proporção de caucasóides em relação ao segundo grupo.

Então, o tabagismo é mais prevalente em pessoas com baixo grau de instrução e em não caucasóides, assim como relatado no inquérito epidemiológico de 2003(27) e pela OMS(22). Na amostra na houve diferença entre renda mensal e *status* tabágico, apesar do inquérito apontar que os fumantes possuam menor poder aquisitivo em relação aos não fumantes.

As variáveis relacionadas aos tabagistas indicaram que a média de idade de início do fumo foi em torno dos 17 anos com desvio padrão de 4 anos, diferente da média encontrada no Rio Grande do Sul que foi de  $12,8 \pm 2,1$  anos em 2004(28); em sua maioria fumavam cerca de 10 cigarros por dia, número que variou de 4 a 22 cigarros/dia; o resultado mais freqüente do FTDN foi a baixa dependência nicotínica ( $3,73 \pm 1,6$ ). Pode-se atribuir o resultado do teste de Fagerström pelo número de cigarros fumados não ser alto, indicando a baixa dependência da maioria dos fumantes na amostra.

Neste trabalho pode se constatar, embora, ainda de modo incipiente que a genética do tabagismo ea que regula o eso corporal/IMC podem estar interligadas ia o polimorfismo Gln223Arg do LEPR aqui explorado.

Os resultados encontrados estimulam a continuação da pesquisa, pois foram encontradas tendências que fazem com que se possa deduzir que possivelmente haja relação entre o polimorfismo Gln223Arg do LEPR, IMC e *status* tabágico. Trabalhos que contribuam na elucidação do mecanismo no qual o comportamento tabágico é influenciado por fatores genéticos poderão auxiliar no tratamento de

tabagistas para a cessação da adição, controlando eventualmente o aumento de peso e estimular medidas preventivas.

## 8 CONCLUSÕES

A análise dos resultados aqui encontrados permite concluir que:

**8.1** A prevalência de fumantes na população estudada foi de 23,6%.

**8.2** As freqüências alélicas e genótípicas, respectivamente, foram: alelo Arg (60,2%) e alelo Gln (39,8%), e genótipos Arg/Arg (34,6%), Gln/Arg (51,2%) e Gln/Gln (14,2%).

**8.3** Não foi verificada associação estatisticamente significativa ( $P = .52$ ) entre IMC e genótipo.

**8.4** Não foi encontrada associação ( $P = .42$ ) entre o *status* tabágico e IMC na população geral. Quando se estratificou por gênero, houve uma tendência ( $P = .08$ ) aos homens obesos fumarem em maior proporção em relação aos homens não obesos.

**8.5** Não foi verificada associação estatisticamente significativa ( $P = .59$ ) entre *status* tabágico e o polimorfismo Gln223Arg do LEPR. Ao estratificar por gênero foi possível verificar que as mulheres com o genótipo Gln/Gln tendem ( $P = .09$ ) a fumar em menor proporção em relação às mulheres com os outros genótipos.

**8.6** Ao associar as três variáveis em estudo, verificou-se que nos indivíduos com IMC maior ou igual a 30 kg/m<sup>2</sup>, o tabagismo se distribuiu de uma maneira diferente conforme o polimorfismo Gln223Arg do LEPR, sendo os obesos com o genótipo Gln/Gln os que tiveram maior proporção de fumantes ( $P = .03$ ).

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Centers for Disease Control - CDC. The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General. [http://www.cdc.gov/tobacco/data\\_statistics/sgr/sgr\\_2004/index.htm](http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/sgr/sgr_2004/index.htm) . 2004. 20-10-2007.
- (2) Instituto Nacional do Câncer - INCA. Tabagismo no Mundo. <http://www.inca.gov.br/tabagismo/frameset.asp?item=dadosnum&link=mundo.htm> . 2007. 20-10-2007.
- (3) U.S.Department of Health and Human Services - CDC. Women and Smoking: A Report of the Surgeon General. [http://www.cdc.gov/tobacco/data\\_statistics/sgr/sgr\\_2001/index.htm](http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/sgr/sgr_2001/index.htm). 2001. 20-10-2007.
- (4) Instituto Nacional do Câncer - INCA. Tabagismo no Brasil. [.http://www.inca.gov.br/tabagismo/frameset.asp?item=dadosnum&link=Brasil.htm](http://www.inca.gov.br/tabagismo/frameset.asp?item=dadosnum&link=Brasil.htm). 2007. 20-10-2007.
- (5) Pomerleau CS, Pomerlau OF, Namenek RJ, Mehringer AM. Short-term weight gain in abstaining women smokers. *J Subst Abuse Treat* 2000; 18(4):339-342.
- (6) Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cérdan MG, Diano S, Horvath TL *et al.* Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 2001; 411(6836):480-484.
- (7) Louis GW, Myers Jr MG. The role of leptin in the regulation of function and CNS development. *Rev Endocr Metab Disord* 2007; 8(2):85-94.
- (8) Walley AJ, Blakemore AIF, Froguel P. Genetics of obesity and prediction of risk for health. *Hum Mol Genet* 2006; 15(2):R124-R130.
- (9) Kirchenchtejn C, Chatkin JM. Diretrizes para cessação do tabagismo: dependência da nicotina. *J Bras Pneumol* 2004; 30(2):14-28.
- (10) Klesges RC, Klesges LM. The relationship between body mass and cigarette smoking using a biochemical index of smoking exposure. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1993; 17(10):585-591.
- (11) Klesges RC, Zbikowski SM, Lando HA, Haddock CK, Talcott GW, Robinson LA. The relationship between smoking and body weight in a population of young military personnel. *Health Psychol* 1998; 17(5):454-458.

- (12) Silva RG, Santos ML. Influência do tabagismo no ganho ponderal, crescimento corporal, consumo alimentar e hídrico de ratos. *J Pneumol* 1997; 23:124-130.
- (13) Li MD, Kane JK, Parker SL, McAllen K, Matta SG, Sharp BM. Nicotine administration enhances NPY expression in the rat hypothalamus. *Brain Res* 2000; 867(1-2):157-164.
- (14) Nicklas BJ, Tomoyasu N, Muir O, Goldberg AP. Effects of cigarette smoking and its cessation on body weight and plasma leptin levels. *Metabolism* 1999; 48(6):804-808.
- (15) Reseland JE, Mundal HM, Hollung KH, Haugen F, Zahid N, Anderssen SA *et al.* Cigarette smoking may reduce plasma leptin concentrations via catecholamines. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005; 73(1):43-49.
- (16) Vander Weg MW, Klesges RC, DeBon M. Relationship between smokeless tobacco use and body weight in young adult military recruits. *Nicotine Tob Res* 2005; 7(2):301-305.
- (17) Mattevi VS, Zembruski VM, Hutz MH. Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26(9):1179-1185.
- (18) Chagnon YC, Chung WK, Pérusse L, Chagnon M, Leibel RL, Bouchard C. Linkages and associations between the leptin receptor (LEPR) gene human body composition in the Québec Family Study. *Int J Obes* 1999; 23(3):278-286.
- (19) Rodrigues A, Suplicy HL, Radominski RB. Controle neuroendócrino do peso corporal: implicações na gênese da obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2003; 47(4):398-409.
- (20) Velloso LA. O controle hipotalâmico da fome e da termogênese - Implicações no desenvolvimento da obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50(2):165-176.
- (21) Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptors associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet* 2001; 108(3):233-236.
- (22) Centers for Disease Control - CDC. Data and Statistics. [http://www.cdc.gov/tobacco/data\\_statistics/index.htm](http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/index.htm) . 2007. 20-10-2007.
- (23) Centers for Disease Control and Prevention - CDC. MMWRs—Global Data. [http://www.cdc.gov/tobacco/data\\_statistics/MMWR/by\\_topic/global.htm](http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/MMWR/by_topic/global.htm) . 2007. 3-11-2007.
- (24) World Health Organization - WHO. Tobacco attribute mortality global estimative and prospective. *Tobacco Alert* 1991;1-4.

- (25) Frieden TR, Bloomberg MR. How to prevent 100 million deaths from tobacco. *Lancet* 2007; 369(9574):1758-1761.
- (26) Ezzati M, Lopez AD. Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000. *Lancet* 2003; 362(9387):847-852.
- (27) Instituto Nacional do Câncer - INCA e Ministério da Saúde. Prevalência do tabagismo no Brasil: dados dos inquéritos epidemiológicos em capitais brasileiras. [www.inca.gov.br/inquerito](http://www.inca.gov.br/inquerito) . 2004. 3-10-2007.
- (28) Galduroz JC, Noto AR, Nappo AS, Carlini EA. V Levantamento Nacional Sobre o Consumo de Drogas Psicotrópicas entre Estudantes do Ensino Fundamental e Médio da Rede Pública de Ensino nas 27 Capitais Brasileiras. 2004.
- (29) Pasqualotti A, Migott AMB, Maciel EN, Branco MMN, Carvalho RMA, Dal Pizzol T *et al.* Experimentação de fumo em estudantes do Ensino Fundamental e Médio de área urbana na região Sul do Brasil. *Rev Interam Psicol* 2006; 40(2):213-218.
- (30) Carlini EA, Galduroz JC, Noto AR. I Levantamento domiciliar sobre uso de drogas psicotrópicas no Brasil: Estudo envolvendo as 107 maiores cidades do país. 2002. Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas - CEBRID.

Ref Type: Data File

- (31) Horta BL, Calheiros P, Pinheiro RT, Tomasi E, Amaral KC. Tabagismo em adolescentes de área urbana na região sul do Brasil. *Rev Saúde Pública* 2001; 35(2):159-164.
- (32) Instituto Nacional do Câncer - INCA. Tratamento do tabagismo - ações de controle. [http://www.inca.gov.br/situacao/arquivos/acoes\\_tratamento\\_tabagismo.pdf](http://www.inca.gov.br/situacao/arquivos/acoes_tratamento_tabagismo.pdf) . 2000. 20-10-2007.
- (33) Mayhew KP, Flay BR, Mott JA. Stages in the development of adolescent smoking. *Drug Alcohol Depend* 2000; 59(1):S61-S81.
- (34) Ho MK, Tyndale RF. Overview of the pharmacogenomics of cigarette smoking. *Pharmacogenomics J* 2007; 7(2):81-98.
- (35) Rosemberg J, Rosemberg AMA, Moraes MA. Nicotina: droga universal. [www.inca.gov.br/tabagismo/publicacoes/nicotina.pdf](http://www.inca.gov.br/tabagismo/publicacoes/nicotina.pdf) , 1-178. 2003. 3-11-2007.
- (36) Green CR, Rodgman A. The Tobacco Chemist's Research Conference: a half-century forum for advances in analytical methodology of tobacco and products. *Recent Adv Tobacco Sci* 1996; 22:131-304.
- (37) Benowitz NL. Nicotine addiction. *Prim Care* 1999; 26(3):611-631.

- (38) Wonnacott S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci* 1997; 20(2):92-98.
- (39) Lockman PR, McAfee G, Geldenhuys WJ, Van der Schyf CJ, Abbruscato TJ, Allen DD. Brain uptake kinetics of nicotine and cotinine after chronic nicotine exposure. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 314(2):636-642.
- (40) Flores CM, Dávila-García MI, Ulrich YM, Kellar KJ. Differential regulation of neuronal nicotinic receptor binding sites following chronic nicotine administration. *J Neurochemistry* 1997; 69(5):2216-2219.
- (41) Perry DC, Dávila-García MI, Stockmeier CA, Kellar KJ. Increased nicotinic receptors in brains from smokers: membrane binding and autoradiography. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289(3):1545-1552.
- (42) Buisson B, Bertrand D. Nicotine addiction: the possible role of functional upregulation. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23(3):130-136.
- (43) Epping-Jordan MP, Watkins SS, Koob GF, Markou A. Dramatic decreases in brain reward function during nicotine withdrawal. *Nature* 1998; 393(6680):76-79.
- (44) McMorrow MJ, Foxx RM. Nicotine's role in smoking: an analysis of nicotine regulation. *Psychol Bull* 1983; 93(2):302-327.
- (45) Kessler DA. The control and manipulation of nicotine and cigarettes. *Tob Control* 1994; 3(4):362-369.
- (46) Morrison CF, Lee PN. A comparison of the effects of nicotine and physostigmine on a measure of activity in the rat. *Psychopharmacologia* 1968; 13(3):210-221.
- (47) Hatchell PC, Collins AC. The influence of genotype and sex behavioral sensitivity to nicotine in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 1980; 71(1):45-49.
- (48) Robinson SF, Marks MJ, Collins AC. Inbred mouse strains vary in oral self-selection of nicotine. *Psychopharmacology (Berl)* 1996; 124(4):332-339.
- (49) Picciotto MR, Zoli M, Rimondini R, Léna C, Marumbio LM, Pich EM *et al.* Acetylcholine receptors containing the beta2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature* 1998; 391(6663):173-177.
- (50) Orr-Urtreger A, Goldner FM, Saeki M, *et al.* Mice deficient in the alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor lack alpha-bungarotoxin binding sites and hippocampal fast nicotinic currents. *J Neurosci* 1997; 17(23):9165-9171.
- (51) Nabeshima T, Itoh A, Kobayashi K, Morita S, Mizuguchi T, Sawada H *et al.* Effects of subacute administration of methamphetamine and nicotine on locomotor activity in transgenic mice expressing the human tyrosine hydroxylase gene. *J Neural Transm Gen Sect* 1994; 97(1):41-49.

- (52) Sullivan P, Kendler K. The genetic epidemiology of smoking. *Nicotine Tob Res* 1999; 1(2):S51-S57.
- (53) Heath A, Kirk A, Meyer J, Martin N. Genetic and social determinants of initiation and age at onset of smoking in Australian twins. *Behav Genet* 1999; 29(6):395-405.
- (54) Madden P, Heath A, Pedersen N, Kaprio J, Koskenvuo MJ, Martin NG. The genetics of smoking persistence in men and women: a multicultural study. *Behav Genet* 1999; 29(6):423-431.
- (55) Batra V, Patkar AA, Berrettini WH, Weinstein SP, Leone FT. The genetic determinants of smoking. *Chest* 2003; 123((5)):1730-1736.
- (56) Fisher RA. Lung Cancer and cigarettes. *Nature* 1958; 182(4628):108.
- (57) Munafo M, Clark T, Johnstone E, Murphy M, Walton R. The genetic basis for smoking behavior: a systematic review and meta-analysis. *Nicotine Tob Res* 2004; 6(4):583-597.
- (58) Lerman C, Caporaso NE, Audrain J, Main D, Bowman ED, Lockshin B *et al.* Evidence suggesting the role of specific genetic factors in cigarette smoking. *Health Psychol* 1999; 18(1):14-20.
- (59) Osler M, Holst C, Prescott E, Sorensen TI. Influence of genes and family environment on adult smoking behavior assessed in an adoption study. *Genet Epidemiol* 2001; 21(3):193-200.
- (60) Hall W, Madden P, Lynskey M. The genetics of tobacco use: methods, findings and policy implications. *Tob Control* 2002; 11(2):119-124.
- (61) Arinami T, Ishiguro H, Onaivi ES. Polymorphisms in genes involved in neurotransmission in relation to smoking. *Eur J Pharmacol* 2000; 410(2-3):215-226.
- (62) MacLeod S, Chowdhury P. The genetics of nicotine dependence: relationship to pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12(46):7433-7439.
- (63) Chatkin JM. The influence of genetics on nicotine dependence and the role of pharmacogenetics in treating the smoking habit. *J Bras Pneumol* 2006; 32(6):573-579.
- (64) Messina ES, Tyndale RF, Sellers EM. A major role for CYP2A6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282:1608-1614.
- (65) Tyndale RF, Sellers EM. Variable CYP2A6-mediated nicotine metabolism alters smoking behavior and risk. *Drug Metab Dispos* 2001; 29(4 Pt 2):548-552.

- (66) Pianezza ML, Sellers EM, Tyndale RF. Nicotine metabolism defect reduces smoking. *Nature* 1998; 393(6687):750.
- (67) Clarke PR. Mesolimbic dopamine activation: the key to nicotine reinforcement. *Ciba Found Symp* 1990; 152:153-162.
- (68) London SJ, Daly AK, Leathart JB, Navidi WC, Carpenter CC, Idle JR. Genetic polymorphism of CYP2A6 and lung cancer risk in African-Americans and Caucasians in Los Angeles County. *Carcinogenesis* 1997; 18(6):1203-1214.
- (69) Mwenifumbo JC, Lessov-Schlaggar CN, Zhou Q, Krasnow RE, Swan GE, Benowitz NL *et al.* Identification of novel CYP2A6\*1B variants: the CYP2A6\*1B allele is associated with faster in vivo nicotine metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 2007.
- (70) Cami J, Farre M. Drug addiction. *N Engl J Med* 2003; 349(10):975-986.
- (71) Noble EP, St Jeon ST, Ritchie T, Syndulko K, St Jeor SC, Fitch RJ *et al.* D2 dopamine receptor gene and cigarette smoking: a reward gene? *Med Hypotheses* 1994; 42(4):257-260.
- (72) Corrigall WA, Coen KM, Adamson KL. Self-administered nicotine activates the mesolimbic dopamine system through the ventral tegmental area. *Brain Res* 1994; 653(1-2):278-184.
- (73) Corrigall WA, Franklin K, Coen KM, Clarke PR. The mesolimbic dopaminergic system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. *Psychopharmacology (Berl)* 1992; 107(2-3):285-289.
- (74) Comings DE, Ferry L, Bradshaw-Robinson S, Burchette R, Chiu C, Muhleman D. The dopamine D2 receptor (DRD2) gene: a genetic risk factor in smoking. *Pharmacogenetics* 1996; 6(1):73-79.
- (75) Bierut LJ, Rice JP, Edenberg HJ, Goate A, Foroud T, Cloninger CR *et al.* Family-based study of the association of the dopamine D2 receptor gene (DRD2) with habitual smoking. *Am J Med Genet* 2000; 90(4):299-302.
- (76) Wu X, Hudmon KS, Detry MA, Chamberlain RM, Spitz MR. D2 dopamine receptor gene polymorphisms among African-Americans and Mexican-American: a lung cancer case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9(10):1021-1026.
- (77) Spitz MR, Shi H, Yang F, Hudmon KS, Jiang H, Chamberlain RM *et al.* Case-control study of the D2 dopamine receptor gene and smoking status in lung cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(5):353-363.
- (78) Comings DE, Wu S, Chiu C, Ring RH, Gade R, Ahn C *et al.* Polygenic inheritance of Tourette syndrome, stuttering, attention deficit hyperactivity, conduct, and oppositional defiant disorder: the addictive and subtractive effect of the three dopaminergic genes-DRD2, DbetaH, and DAT. *Am J Med Genet* 1996; 67(3):264-288.

- (79) Shields PG, Lerman C, Audrain J, Bowman ED, Main D, Bovd NR *et al.* Dopamine D4 receptors and risk of cigarette smoking in African-American and Caucasian. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7(6):453-458.
- (80) Noble EP. The DRD2 gene in psychiatric and neurological disorders and its phenotypes. *Pharmacogenomics* 2000; 1(3):309-333.
- (81) VanNess S, Owens M, Kilts C. The variable number of tandem repeats element in DAT1 regulates in vitro dopamine transporter density. *BMC Genet* 2005; 6:55.
- (82) Cook EH, Stein MA, Krasowski MD, Cox NJ, Olkon DM, Kieffer JE *et al.* Association on attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am J Hum Genet* 1995; 56(4):993-998.
- (83) Gelernter J, Liu X, Hesselbrock V, Page GP, Goddard A, Zhang H. Results of a genome-wide linkage scan: support for chromosomes 9 and 11 loci increasing risk for cigarette smoking. *Am J Med Genet B NeuroPsychiatr Genet* 2004; 128(1):94-101.
- (84) Albanèse V, Biguet NF, Kiefer H, Bayard E, Mallet J, Meloni R. Quantitative effects on gene silencing by allelic variation at a tetranucleotide microsatellite. *Hum Mol Genet* 2001; 10(17):1785-1792.
- (85) Olsson C, Anney R, Forrest S, Patton G, Coffey C, Cameron T *et al.* Association between dependent smoking and a polymorphism in the adolescent health. *Behav Genet* 2004; 34(1):85-91.
- (86) Lerman C, Caporaso NE, Bush A, Zheng YL, Audrain J, Main D *et al.* Tryptophan hydroxylase gene variant and smoking behavior. *Am J Med Genet* 2001; 105(6):518-520.
- (87) Saccone N, Neuman R, Saccone S, Rice J. Genetic analysis os maximum cigarette-use phenotypes. *BMC Genet* 2003; 4(1):S105.
- (88) Sabol SZ, Hu S, Hamer D. A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. *Hum Genet* 1998; 103(3):273-279.
- (89) Ito H, Hamajima N, Matsuo K, Okuma K, Sato S, Ueda R *et al.* Monoamine oxidase polymorphism and smoking behaviour in Japanese. *Pharmacogenetics* 2003; 13(2):73-79.
- (90) Jin Y, Chen D, Hu Y, Guo S, Sun H, Lu A *et al.* Association between monoamine oxidase gene polymorphism and smoking behaviour in Chinese males. *Int J Neuropsychopharmacol* 2005; 9(5):557-564.
- (91) Mannisto PT, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase (COMT): biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. *Pharmacol Rev* 1999; 51(4):593-628.
- (92) Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: descriptions

of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* 1996; 6(3):243-250.

- (93) Beuten J, Payne TJ, Ma JZ, Li MD. Significant association of catechol-O-methyltransferase (COMT) haplotypes with nicotine dependence in male and female smokers of two ethnic populations. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31(3):675-684.
- (94) Porras G, Di Matteo V, Fracasso C, Lucas G, De Deurwaerdère P, Caccia S *et al.* 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C/2B</sub> receptor subtypes modulate dopamine release induced in vivo by amphetamine and morphine in both the rat nucleus accumbens and striatum. *Neuropsychopharmacology* 2002; 26(3):311-324.
- (95) Ribeiro EB, Bettiker RL, Bogdanov M, Wurtman RJ. Effects of systemic nicotine on serotonin release in rat brain. *Brain Res* 1993; 621(2):311-318.
- (96) Mihailescu S, Palomero-Rivero M, Meade-Huerta P, Maza-Flores A, Drucker-Colin R. Effects of nicotine and mecamylamine on rat dorsal raphe neurons. *Eur J Pharmacol* 1998; 360(1):31-36.
- (97) Lesh KP, Balling U, Gross J, Strauss K, Wolozin BL, Murphy DL *et al.* Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Transm Gen Sect* 1994; 95(2):157-162.
- (98) Heils A, Teufel A, Petri S, Stöber G, Riederer P, Bengel D *et al.* Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem* 1996; 66(6):2621-2624.
- (99) Lerman C, Shields PG, Audrain J, Main D, Cobb B, Boyd NR *et al.* The role of serotonin transporter gene in cigarette smoking. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7(3):253-255.
- (100) Ishikawa H, Ohtsuki T, Ishiguro H, Yamakawa-Kobayashi K, Endo K, Lin YL, Yanagi H *et al.* Association between serotonin transporter gene polymorphism and smoking among Japanese males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(9):831-833.
- (101) Lerman C, Caporaso NE, Audrain J, Main D, Boyd NR, Shields PG. Interacting effects of the serotonin transporter gene and neuroticism in smoking practices and nicotine dependence. *Mol Psychiatry* 2000; 5(2):189-192.
- (102) Reuter M, Hennig J. Pleiotropic effects of the TPH A779C polymorphism on nicotine dependence and personality. *Am J Med Genet* 2005; 134(1):20-24.
- (103) Feng Y, Niu T, Xing H, Xu X, Chen C, Peng S *et al.* A common haplotype of the nicotine acetylcholine receptor alpha 4 subunit gene is associated with vulnerability to nicotine addiction in men. *Am J Hum Genet* 2004; 75(1):112-121.
- (104) Greenbaum L, Kanyas K, Karni O, Merbl Y, Olender T, Horowitz A *et al.* Why do young women smoke? I. Direct and interactive effects of environment,

- psychological characteristics and nicotinic cholinergic receptor genes. *Mol Psychiatry* 2006; 11(3):312-322.
- (105) Filozof C. Smoking cessation and weight gain. *Obes Res* 2004; 5(2):95-103.
- (106) Schwartz MW, Woods SC, Porte DJ, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404(6778):661-671.
- (107) Lee H, Keun-Ho, Kim, Park J, Lee D, Sung H *et al.* Increased leptin and decreased ghrelin level after smoking cessation. *Neurosci Lett* 2006; 409(1):47-51.
- (108) Woods S, Lotter E, McKay L, Porte DJ. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature* 1979; 282(5738):503-505.
- (109) Romero C, Zanesco A. O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. *Rev Nutr* 2006; 19(1):85-91.
- (110) Horvath TL. Synaptic plasticity in energy balance regulation. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 14(15):228S-233S.
- (111) Meyer C, Robson D, Rackovsky N, Nadkarni V, Gerich J. Role of the kidney in human leptin metabolism. *Am J Physiol* 1997; 273(5 Pt 1):E903-E907.
- (112) Eliasson B, Smith U. Leptin levels in smokers and long-term users of nicotine gum. *Eur J Clin Invest* 1999; 29(2):145-152.
- (113) Donahue RP, Zimmet PZ, Bean JA, Decourten M, Donahue RAD, Collier GR *et al.* Cigarette smoking, alcohol use, and physical activity in relation to serum leptin levels in a multiethnic population: the Miami Community Health Study. *Ann Epidemiol* 1999; 9(2):108-113.
- (114) Mantzoros CS, Liolios AD, Tritos NA, Kaklamani VG, Doulgerakis DE, Griveas I *et al.* Circulating insulin concentration, smoking and alcohol intake are important independent predictor of leptin in young healthy men. *Obes Res* 1998; 6(3):179-186.
- (115) Wei M, Stern MP, Haffner SM. Serum leptin levels in Mexican Americans and non-Hispanic whites: associations with body mass index and cigarette smoking. *Am J Epidemiol* 1997; 7(2):81-86.
- (116) Lagiou P, Signorello LB, Mantzoros CS, Trichopoulos D, Hsieh C, Trichopoulos A. Hormonal, lifestyle, and dietary factors in relation to leptin among elderly men. *Ann Nutr Metab* 1999; 43(1):23-29.
- (117) Larsson H, Aharen BS. Smoking habits and circulation leptin postmenopausal non-obese women. *Diabetes Obes Metab* 1999; 1(1):57-59.
- (118) Perkins KA, Fonte C. Effects of smoking status and smoking cessation on leptin levels. *Nicotine Tob Res* 2002; 4(4):459-466.

- (119) Nakazato M, Murakami N, Dae Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; 409(6817):194-198.
- (120) Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Pérusse L, Rankinen T, Tschöp M *et al.* Role of ghrelin polymorphism in obesity based on three different studies. *Obes Res* 2002; 10(8):782-791.
- (121) Leidy HJ, Gardner JK, Frye BR, Snook ML, Schuchert MK, Richard EL. Circulating ghrelin is sensitive to changes in body weight during a diet and exercise program in normal weight young women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(6):2659-2664.
- (122) Kokkinos A, Tentolouris N, Argyrakopoulou G, Kyriakaki E, Psallas M, Kyriaki D *et al.* Differentiation in the short- and long-term effects of smoking on plasma total ghrelin concentrations between male nonsmokers and habitual smokers. *Metabolism* 2007; 56(4):523-527.
- (123) Halford JC. Pharmacology of appetite suppression: implication for the treatment of obesity. *Curr Drug Targets* 2001; 2(4):353-370.
- (124) Blundell JE, Lawton CL, Halford JCG. Serotonin, eating behavior, and fat intake. *Obes Res* 1995; 4:471S-476S.
- (125) Spring B, Wurtman J, Gleason C, Wurtman R, Kessler K. Weight gain and withdrawal symptoms after smoking cessation: a preventative intervention using d-fenfluramine. *Health Psychol* 1991; 10(3):216-223.
- (126) Martel P, Fantino M. Mesolimbic dopaminergic system activity as a function of food reward: a microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 53(1):221-226.
- (127) Due DL, Huettel SA, Hall WG, Rubin DC. Activation in mesolimbic and visuospatial neural circuits elicited by smoking cues: evidence and functional magnetic resonance imaging. *Am J Psychiatry* 2002; 159(6):954-960.
- (128) Kenny PJ, Markou A. A neurobiology of the nicotine withdrawal syndrome. *Pharmacol Biochem Behav* 2001; 70(4):531-549.
- (129) Flegal KM, Markou A. The influence of smoking cessation on the prevalence of overweight in the United States. *N Engl J Med* 1995; 333(18):1165-1170.
- (130) Leischow SJ, Stitzer ML. Effects of smoking cessation on caloric intake and weight gain in inpatient unit. *Psychopharmacology (Berl)* 1991; 104(4):522-526.
- (131) Hatsukami D, LaBountry L, Hughes J, Laine D. Effects of tobacco abstinence on food intake among cigarette smokers. *Health Psychol* 1993; 12(6):499-502.
- (132) Kos J, Hasenfratz M, Battig K. Effects of a 3-day abstinence from smoking on dietary, cognitive, subjective, and physiologic parameters among younger and older female smokers. *Physiol Behav* 1997; 61(5):671-678.

- (133) Hall SM, McGee R, Turnstall C, Duffy J, Benowitz N. Changes in food intake and activity after quitting smoking. *J Consult Clin Psychol* 1989; 57(1):81-86.
- (134) Gilbert RM, Pope MA. Early effects of quitting smoking. *Psychopharmacology (Berl)* 1982; 78(2):121-127.
- (135) Chen H, Hansen MJ, Jones JE, Vlahos R, Bozinovski S, Gary PA *et al.* Cigarette smoke exposure reprograms the hypothalamic neuropeptide Y axis to promote weight loss. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:1248-1254.
- (136) Chen H, Vlahos R, Bozinovski S, Jones J, Andersen GP, Morris MJ. Effect of short-term cigarette smoke exposure on body weight, appetite and brain neuropeptide Y in mice. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30(4):713-719.
- (137) Harvey J. Leptin: a diverse regulator of neuronal function. *J Neurochem* 2007; 100(2):307-313.
- (138) Chen H, Hansen MJ, Jones JE, Vlahos R, Bozinovski S, Anderson GP *et al.* Regulation of hypothalamic NPY by diet and smoking. *Peptides* 2007; 28(2):384-389.
- (139) Martínez JA, Kearney JM, Kafatos A, Paquet S, Martinez-Gonzalez MA. Variables independently associated with self-reporter obesity in the European Union. *Public Health Nutr* 1999; 2(1A):125-133.
- (140) Peterson AL, Helton J. Smoking cessation and weight gain in the military. *Mil Med* 2000; 165(7):536-538.
- (141) Wack JT, Rodin J. Smoking and its effects on body and the systems of caloric regulation. *Am J Clin Nutr* 1982; 35(2):366-380.
- (142) Klesges RC, Eck LH, Isabell TR, Fulliton W, Hanson CL. Smoking status: effects on the dietary intake, physical activity, and body fat of adult men. *Am J Clin Nutr* 1990; 51(5):784-789.
- (143) Perkins KA, Epstein LH, Pastor S. Changes in energy balance following smoking cessation and resumption of smoking in women. *J Consult Clin Psychol* 1990; 58(1):121-125.
- (144) U.S.Department of Health and Human Services - CDC. *Healthy People 2010: understanding and improving health*. 2d ed. 2000.
- (145) Coates TH, Li V. Does smoking cessation lead to weight gain? The experience of asbestos-exposed shipyard workers. *Am J Public Health* 1986; 73(11):1103-1104.
- (146) Froom P, Kristal-Boneh E, Melamed S, Gofer D, Benbassat J, Ribak J. Smoking cessation and body mass index of occupationally active men: the Israeli CORDIS Study. *Am J Public Health* 1999; 89(5):718-722.

- (147) Albanes D, Jones DY, Micozzi MS, Mattson ME. Associations between smoking and body weight in the U.S. Population: analysis of NHANES II. *Am J Public Health* 1987; 77(4):439-444.
- (148) Williamson DF, Madans J, Anda RF, Kleinman JC, Giovino GA, Byers T. Smoking cessation and severity of weight gain in a national cohort. *N Engl J Med* 1991; 324(11):739-745.
- (149) O'Hara P, Connett JE, Lee WW, Nides M, Murray R, Wise R. Early and late weight gain following smoking cessation in the Lung Health Study. *Am J Epidemiol* 1998; 148(9):821-830.
- (150) Pisinger C, Jorgensen T. Waist circumference and weight following smoking cessation in a general population: The Inter99 Study. *Prev Med* 2007; 44(4):290-295.
- (151) Meyers AW, Klesges RC, Winders SE, Ward KD, Peterson BA, Eck LH. Are weight concerns predictive of smoking cessation? A prospective analysis. *J Consult Clin Psychol* 1997; 65(3):448-452.
- (152) Swan GE, Carmelli D. Characteristics associated with excessive weight gain after somking cessation in men. *J Behav Med* 1995; 85(1):73-77.
- (153) Borrelli B, Mermelstein R. The role of weight concern self-efficacy in smoking cessation program. *Addict Behav* 1998; 23(5):609-622.
- (154) Klein LC, Corwin EJ, Ceballos RM. Leptin, hunger, and body weight: influence of gender, tobacco smoking, and smoking abstinence. *Addict Behav* 2004; 29(5):921-927.
- (155) Froom P, Melamed S, Benbassat J. Smoking cessation and weight gain. *J Fam Pract* 1998; 46(6):460-464.
- (156) Perkins KA, Marcus MD, Levine MD, DÁmico D, Miller A, Broge M *et al.* Cognitive-behavioral therapy to reduce weight concerns improves smoking cessation outcome in weight-concerned women. *J Consult Clin Psychol* 2001; 69(4):604-613.
- (157) Duncan BB. Smoking cessation in the development of obesity. In: *Proceedings of the 9th International Congress on Obesity. Progress In Obesity Research* 2003; 9:410-413.
- (158) Klesges RC, Winders SE, Meyers AW, Eck LH, Ward KD, Hultquist CM *et al.* How much weight gain occurs following smoking cessation? A comparison of weight gain using both continuous and point prevalence abstinence. *J Consult Clin Psychol* 1997; 65(2):286-291.
- (159) Mitchell SL, Perkins KA. Interaction of stress, smoking and dietary restraint in women. *Physiol Behav* 1998; 64(1):103-109.

- (160) Coogan PF, Adams M, Geller AC, Brooks D, Miller DR, Lew RA *et al*. Factors associated with smoking among children and adolescents in Connecticut. *Am J Prev Med* 1998; 15(1):17-24.
- (161) Klesges RC, Ward KD, Ray W, Cutter G, Jacobs DR, Wagenknecht LE. The prospective relationship between smoking and weight in a young, biracial cohort: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 1998; 66((2)):983-993.
- (162) Camp DE, Klesges RC, Relyea G. The relationship between body weight concerns and adolescent smoking. *Health Psychol* 1993; 12(1):24-32.
- (163) Cooper TV, Klesges RC, Robinson LA, Zbikowski SM. A prospective evaluation of the relationships between smoking dosage and body mass in an adolescent, biracial cohort. *Addict Behav* 2003; 28(3):501-512.
- (164) Boles SM, Johnson PB. Gender, weight concerns, and adolescent smoking. *J Addict Dis* 2001; 20(2):5-14.
- (165) Cavallo DA, Duhig AM, McKee S, Krishnan-Sarin S. Gender and weight concerns in adolescent smokers. *Addict Behav* 2006; 31(11):2140-2146.
- (166) John U, Hanke M, Rumpf HJ, Thyrian JR. Smoking status, cigarettes per day, and their relationship to overweight and obesity among former and current smokers in a national adult general population sample. *Int J Obes* 2005; 29(10):1289-1294.
- (167) Clearman DR, Jacobs DR. Relationship between weight and caloric intake of men who stop smoking: the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Addict Behav* 1991; 16(6):401-410.
- (168) Bamia C, Trichopoulou A, Lenas D, Trichopoulou D. Tobacco smoking in relation to body fat mass and distribution in a general population sample. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28(8):1091-1096.
- (169) Bellinger L, Cepeda-Benito A, Wellman PJ. Meal patterns in male rats during and after intermittent nicotine administration. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 74(2):495-504.
- (170) Bishop C, Parker GC, Coscina DV. Systemic nicotine alters whole-body fat utilization in female rats. *Physiol Behav* 2004; 80(4):563-567.
- (171) Dale LC, Schroeder DR, Wolter TD, Croghon IT, Hurt RD, Oxford KP. Weight change after smoking cessation using variable doses of transdermal nicotine replacement. *J Gen Intern Med* 1998; 13:9-15.
- (172) Gross J, Stitzer ML, Maldonado J. Nicotine replacement effects on post cessation weight gain. *J Consult Clin Psychol* 1989; 57(1):87-92.
- (173) Talcott GW, Fiedler ER, Pascale RW, Klesges RC, Peterson AL, Johnson RS. Is weight gain after smoking cessation inevitable? *J Consult Clin Psychol* 1995; 63(2):313-316.

- (174) Chen H, Hansen MJ, Jones JE, Vlahos R, Bozinovski S, Gary PA *et al.* Cigarette smoke exposure reprograms the hypothalamic neuropeptide Y axis to promote weight loss. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173(11):1248-1254.
- (175) Wee CC, Rigotti NA, Davis RB, Phillips RS. Relationship between smoking and weight control efforts among adults in the United States. *Arch Intern Med* 2001; 161(4):546-550.
- (176) Jacobs DR, Adachi H, Mulder I, Kromhout D, Menotti A, Nissinen A *et al.* Cigarette smoking and mortality risk: twenty-five-year follow-up of the Seven Countries Study. *Arch Intern Med* 1999; 159(7):733-740.
- (177) Chinn S, Jarvis D, Melloti R, Luczynska C, Ackermann-Liebrich U, Anto JM *et al.* Smoking cessation, lung function, and weight gain: a follow-up study. *Lancet* 2005; 365(9471):1629-1635.
- (178) Nilsson P, Söderström M, Fagerström KO, Nilsson-Ehle P. Effects of smoking cessation on insulin and cardiovascular risk factors: a controlled study of 4 months' duration. *J Intern Med* 1996; 240(4):189-194.
- (179) Kannel WB. Some lessons in the cardiovascular epidemiology from Framingham. *Am J Cardiol* 1976; 37(2):269-282.
- (180) Castelli WF, Dawber TR, Feinlaib M, Kannel WB. The filter cigarette and coronary heart disease: The Framingham Study. *Lancet* 1981; 11(8238):109-113.
- (181) Walker JF, Collins LC, Rowell PP, Goldsmith LJ, Moffatt RJ, Stamford BA. The effect of smoking on energy expenditure and plasma catecholamine and nicotine levels during light physical activity. *Nicotine Tob Res* 1999; 1(4):365-370.
- (182) Hoffstedt J, Eriksson P, Mottagui-Tabar S, Arner P. A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. *Horm Metab Res* 2002; 34(7):355-359.
- (183) Miyanta G, Meguid MM, Varma M, Fetisov SO, Kim HJ. Nicotine alters the usual reciprocity between meal size and meal number in female rat. *Physiol Behav* 2001; 74(1-2):169-176.
- (184) Gross J, Stitzer ML, Maldonado J. Nicotine replacement effects on post cessation after smoking cessation using variable doses of transdermal nicotine replacement. *J Consult Clin Psychol* 1989; 57:87-92.
- (185) Dale LC, Schroeder DR, Wolter TD, Croghon IT, Hurt RD, Oxford KP. Weight change after smoking cessation using variable doses of transdermal nicotine replacement. *J Gen Intern Med* 1998; 13(1):9-15.
- (186) Hughes JR, Hatsukami D. Effects of three doses of transdermal nicotine on post-cessation eating, hunger and weight. *J Subst Abuse* 1997; 9:151-159.

- (187) Hays JT, Hurt RD, Rigotti NA, Niaura R, Gonzales D, Duncan MJ *et al.* Sustained releases bupropion for pharmacological relapse prevention alter smoking cessation: a randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 2001; 1(135):423-433.
- (188) Jorenby DE, Leischow SJ, Nides MA, Rennard SI, Johnston JA, Hughes AR *et al.* A controlled clinical trial of SR bupropion, a nicotina path, or both for smoking cessation. *N Engl J Med* 1999; 340(9):685-691.
- (189) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barrone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of mouse obese and its human homologue. *Nature* 1994; 372(6505):425-432.
- (190) Friedman JM, Flier JS. Leptin as a therapeutic agent: trials and tribulations. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(11):4000-4002.
- (191) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barrone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of mouse obese and its human homologue. *Nature* 1994; 372((6505)):425-432.
- (192) Rink TJ. In search of a satiety factor. *Nature* 1995; 372(6505):406-407.
- (193) Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: the tale of obesity gene. *Diabetes* 1996; 45(11):1455-1462.
- (194) Eikelis N, Wiesner G, Lambert ME. Brain Leptin resistance in human obesity revisited. *Regul Pept* 2007; 139(1-3):45-51.
- (195) Elmquist JK, Maratos-Flier E, Saper CB, Flier JS. Unraveling the central nervous system pathways underlying responses to leptin. *Nat Neurosci* 1998; 1(6):445-450.
- (196) Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Lollman B, Lowell BB, Flier JS. Leptin reflects body lipid content in mice: evidence for diet-induced leptin resistance. *Nat Med* 1995; 1(12):1311-1314.
- (197) Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN *et al.* The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998; 394(6695):790-793.
- (198) Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, Mercer JP. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94(20):11073-11078.
- (199) Wang J, Liu R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature* 1998; 393(6686):684-688.
- (200) Wang MY, Zhou YT, Newgard CB, Unger RH. A novel leptin receptor isoform in rat. *FEBS Lett* 1996; 392(2):87-90.
- (201) Gale SM, Castracane VD, Mantzoros CS. Energy homeostasis, obesity and eating disorders: recent advances in endocrinology. *J Nutr* 2004; 134(2):295.

- (202) Azuma T, Suto H, Ito Y, Ohtani M, Dojo M, Kuriyama M *et al.* Gastric leptin and *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 2001; 49(3):324-329.
- (203) Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey M, Burgett SG, Craft L *et al.* The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377(6549):530-534.
- (204) Erickson JC, Hollopeter G, Palmiter RD. Attenuation of the obesity syndrome of ob/ob mice by the loss of neuropeptide Y. *Science* 1996; 274(5293):1704-1707.
- (205) Cone RD. The central melanocortin system and energy homeostasis. *Ann Endocrinol* 1999; 60(1):3-9.
- (206) Woods AJ, Stock MJ. Leptin activation in hypothalamus. *Nature* 1996; 377(6549):745.
- (207) Skibola DR, Smith MT, Bracci PM, Hubbard AE, Agana L. Polymorphisms in ghrelin and neuropeptide Y genes are associated with Non-Hodkin Lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(5):1251-1256.
- (208) Kalra SP, Kalra PS. Neuropeptide Y: a physiological orexigen modulated by the feedback action of ghrelin and leptin. *Endocrine* 2003; 22(1):49-56.
- (209) Konturek SJ, Konturek JW, Pawlik T, Brzozowski T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J Physiol Pharmacol* 2004; 55(1 Pt 2):137-154.
- (210) Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001; 50(4):707-709.
- (211) Hinney A, Hoch A, Geller F, Schäfer H, Siegfried W, Goldschmidt H *et al.* Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(6):2716.
- (212) Sivitz WI, Walsh SA, Morgan DA, Thomas MJ, Haynes WG. Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats. *Endocrinology* 1997; 138(8):3395-3401.
- (213) Carvalheira JB, Torsoni MA, Ueno M, Amaral ME, Araújo EP, Velloso LA *et al.* Cross-talk between the insulin and leptin signalling systems in rat hypothalamus. *Obes Res* 2005; 13(1):48-57.
- (214) Carvalheira JB, Siloto RM, Ignacchitti I, Breneli SL, Carvalho CR, Leite A *et al.* Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus. *FEBS Lett* 2001; 500(3):119-524.
- (215) Myers Jr MG. Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology. *Recent Prog Horm* 2004; 59:287-304.

- (216) Kloek C, Haq AK, Dunn SL, Lavery HJ, Banks AS, Myers M. Regulation of Jak kinases by intracellular leptin receptor sequences. *J Biol Chem* 2002; 277(44):41547-41555.
- (217) Bates SH, Dundon TA, Seifert M, Carlson M, Maratos-Flier E, Myers Jr MG. LRB-STAT3 signaling is required for leptin neuroendocrine regulation of energy expenditure by leptin. *Diabetes* 2004; 53(12):3067-3073.
- (218) Xu AW, Kaelin CB, Takeda K, Akira S, Schwartz MW, Barsh GS. PI3K integrates the action of insulin and leptin on hypothalamic neurons. *J Clin Invest* 2005; 115(4):951-958.
- (219) Plum L, Schubert M, Bruning JC. The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab* 2005; 16(2):59-65.
- (220) Flier JS. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell* 2004; 116(2):337-350.
- (221) Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E *et al*. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996; 382((6588)):250-252.
- (222) van Rossum TM, Hoebee B, van Baak MA, Mars M, Saris WHA, Seidell J. Genetic variation in the leptin receptor gene, leptin, and weight gain in young Dutch adults. *Obes Res* 2003; 11(3):377-386.
- (223) Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Hyde TM, Caro JF. The hypothalamic leptin receptor in human: identification of incidental sequence polymorphisms and absence of the db/db mouse and fa/fa rat mutations. *Diabetes* 1996; 45(7):992-994.
- (224) Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Nyce MR, Magosin SA, Bauer TL *et al*. Evidence against either a premature stop codon or the absence of obese gene mRNA in human obesity. *J Clin Invest* 1995; 95(6):2986-2988.
- (225) Ravussin E, Pratley RE, Maffei M, Wang H, Friedman JM, Bennett PH *et al*. Relatively low plasma leptin concentrations precede weight gain in Pima Indians. *Nat Med* 1997; 3(2):238-240.
- (226) Wauters M, Mertens i, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC *et al*. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *Int J Obesity Relat Metab Disord* 2001; 25(5):714-720.
- (227) Maffei M, Stoffel M, Barrone M, Moon B, Dammerman M, Ravussin E *et al*. Absence of mutations in the human Ob gene in obese/diabetic subjects. *Diabetes* 1996; 45(5):679-682.
- (228) Carlsson B, indell K, Gabrielsson B, Karlsson C, Bjarnason R, Westphal O *et al*. Obese (ob) gene defects are rare in human obesity. *Obes Res* 1997; 5(1):30-35.

- (229) Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ *et al.* Evidence that the diabetes genes encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996; 84(3):491-495.
- (230) Tartaglia LA, Denbski M, Weng X, Weng X, Deng N, Culppeper J *et al.* Identification and expression cloning of a leptin receptor OB-R. *Cell* 1995; 83(7):1263-1271.
- (231) Hakansson ML, Hulting AL, Meister B. Expression of leptin receptor mRNA in the hypothalamic arcuate nucleus - relationship with NPY neurons. *Neuroreport* 1996; 7(1):3087-3092.
- (232) Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 2000; 62:413-437.
- (233) Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JL. Abnormal splicing of leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996; 379(6566):632-635.
- (234) Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(9):4434-4439.
- (235) Baumann H, Morella KK, White DW, Dembski M, Bailon PS, Kim H *et al.* The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(16):8374-8378.
- (236) Yamashita T, Murakami T, Otani S, Kuwajima M, Shima K. Leptin receptor signal transduction: OBRa and OBRb of fa type. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 246(3):752-759.
- (237) Dyer CJ, Simmons JM, Mattevi RL, Keisler DH. cDNA cloning and tissue-specific gene expression of ovine leptin, NPY-Y1 receptor, and NPY-Y2 receptor. *Domest Anim Endocrinol* 1997; 14(5):295-303.
- (238) Bjorbaek C, Uotani S, da Silva B, Flier JS. Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem* 1997; 272(51):32686-32695.
- (239) Woods SC, Seeley Jr R, Porte Jr D, Schwartz MW. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science* 1998; 280(5368):1378-1383.
- (240) Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda H, Masuzaki H, Miyawaki T *et al.* Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity. *Diabetologia* 1997; 40(10):1204-1210.
- (241) Chung WK, Power-Kehoe L, Chua M, Chu F, Aronne L, Huma Z *et al.* Exonic and intronic sequence variation in the human leptin receptor gene (LEPR). *Diabetes* 1997; 46(9):1509-1511.

- (242) Lakka TA, Rankinen T, Weisnagel SJ, Chagnon YC, Lakka HM, Ukkola O *et al.* Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and changes in glucose homeostasis in response to regular exercise in nondiabetic individuals: The HERITAGE family study. *Diabetes* 2004; 53(3):1603-1608.
- (243) Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, Chagnon M, Pérusse L, Lindell K *et al.* Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(9):3126-3131.
- (244) Mergen H, Karaaslan C, Mergen M, Deniz Ozsoy E. LEPR, ADBR3, IRS-1 and 5HTT genes polymorphism do not associate with obesity. *Endocr J* 2007; 54(1):89-94.
- (245) Walston J, Silver K, Bogardus C, Knowler WC, Celi FS, Austin S *et al.* Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variations in the beta 3-adrenergic receptor gene. *N Engl J Med* 1995; 333(10):343-347.
- (246) Chagnon YC, Wilmore JH, Borecki IB, Gagnon J, Perusse L, Chagnon M *et al.* Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the HERITAGE family study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(1):29-34.
- (247) Kadowaki H, Yasuda K, Iwamoto K, Otabe S, Shimokawa K, Silver K *et al.* A mutation in the beta (3)-adrenergic-receptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215(2):555-560.
- (248) Clausen JO, Hansen T, Bjorbaek C, Echwald SM, Urhammer SA, Rasmussen S *et al.* Insulin resistance: interactions between obesity and a common variant of insulin receptor substrate-1. *Lancet* 1995; 346(8972):397-402.
- (249) Richert L, Chevalley T, Manen D, Bonjour J, Rizzoli R, Ferrari S. Bone mass in prepubertal boys is associated with a Gln223Arg amino acid substitution in the leptin receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 2007.
- (250) Le Stunff C, Le Bihan C, Schrk NJ, Bougneres P. A common promoter variant of the leptin gene is associated with changes in the leptin relationship between serum leptin and fat mass in obese girls. *Diabetes* 2000; 49(12):2196-2200.
- (251) Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of leptin and obesity: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005; 162(2):101-114.
- (252) Halpern ZSC, Rodrigues MDB, Costa RF. Determinantes fisiológicos do controle do peso e appetite. *Rev Psiq Clin* 2004; 31(4):150-153.
- (253) Jo YH, Talmage DA, Role LW. Nicotinic receptor-mediated effects on appetite and food intake. *J Neurobiol* 2002; 53(4):618-632.
- (254) Frankish HM, Dryden S, Wang Q, Bing C, MacFarlane IA, Williams G. Nicotine administration reduces neuropeptide Y mRNA concentrations in the

rat hypothalamus: NPY may mediate nicotine's effects on energy balance. *Brain Res* 1995; 694(1-2):139-146.

- (255) Jang MH, Shin MC, Kim KH, Cho SY, Bahn GH, Kim EH *et al.* Nicotine administration decreases neuropeptide Y expression and increases leptin receptor expression in the hypothalamus of food derive rats. *Brain Res* 2005; 964(2):311-315.
- (256) Carney RM, Goldberg AP. Weight gain after cessation of cigarette smoking: a possible role for adipose-tissue lipoprotein lipase. *N Engl J Med* 1984; 310(10):614-616.
- (257) Pomerleau OF, Rosecrans J. Neuroregulatory effects of nicotine. *Psychoneuroendocrinology* 1989; 14(6):407-423.
- (258) Hodge AM, Westerman RA, Courten MP, Collier GR, Zimmet PZ, Alberti KGMM. Is leptin sensitivity link between smoking cessation and weight gain? *Int J Obesity Relat Metab Disord* 1997; 21(1):50-53.
- (259) Mantzoros CS, Liolios AD, Tritos NA, Kaklamani VG, Doulgerakis DE, Griveas I *et al.* Circulating insulin concentration, smoking and alcohol intake are important independent predictor of leptin in young healthy men. *Obes Res* 1998; 6(3):179-186.
- (260) Yoshinari M, Wakisaka M, Fujishima M. Serum leptin levels in smokers with type 2 diabetes. *Diabetes* 1998; 21(4):516-517.
- (261) National Center for Health Statistics - Center for Disease Control and Prevention (CDC). Tobacco Glossary of Terms. [http://www.cdc.gov/nchs/about/major/nhis/tobacco/nhis\\_togloss.htm](http://www.cdc.gov/nchs/about/major/nhis/tobacco/nhis_togloss.htm) . 2007. 15-11-2007.
- (262) Fagerström KO, Schneider NG. Measuring nicotine dependence: a review of the Fagerström Tolerance Questionnaire. *J Behav Med* 1989; 12(2):159-182.
- (263) Gadzik J. "How much should I weight?" - Quetelet's equation, upper weight limits and BMI rime. *Conn Med* 2006; 70(2):81-88.
- (264) World Health Organization - WHO. BMI Classification. [http://www.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://www.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html) . 2007. 20-10-2007.
- (265) Debomoy KL, Nurnberg Jr JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acid Research* 1991; 19(19):5444.
- (266) Chomczynski P. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. *BioTechniques* 1993; 15(3):536-537.
- (267) Chomczynski P, Sacchi N. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162(1):156-159.

- (268) Gotoda T, Manning BS, Goldstone AP, Imrie H, Evans AL, Strosberg AD *et al.* Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white British male population. *Hum Mol Genet* 1998; 6(6):869-876.
- (269) Waalwijk C, Flavell RA. *Msp* I, an isoschizomer of *Hpa* II wick cleaves both unmethylated and methylated *Hpa* II sites. *Nucleic Acid Res* 1978; 5(9):3231-3236.
- (270) Promega. Usage information.  
<http://www.promega.com/techserv/apps/cloning/REDigests.pdf> . 2007. 30-10-2007.
- (271) Hardy GH. Mendelian proportions in a mixed population. *Science* 1908; 28:49-50.
- (272) Ukkola O, Tremblay A, Després JP, Chagnon YC, Campfield LA, Bouchard C. Leptin receptor Gln223Arg variant is associated with cluster of metabolic abnormalities in response to long-term overfeeding. *J Inter Med* 2000; 248(5):435-439.
- (273) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Cidades.  
<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>. 2007. 20-10-2007.

## ANEXO A

### Carta Informativa

Estamos realizando uma pesquisa intitulada “**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO Gln223Arg DO RECEPTOR DA LEPTINA COM ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E STATUS TABÁGICO**”. Este trabalho faz parte do Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica e Ciências da Saúde – Curso de Mestrado da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

A partir de agora, um profissional lhe fará perguntas como parte de alguns testes (Questionário e Teste de Fagerström) no momento da doação e coleta de sangue. A entrevista consta de dados como data de nascimento, sexo, escolaridade, atividade profissional, renda familiar, estado civil, se é fumante ou não, idade de início do tabagismo, quantidade de cigarros fumada por dia, tentativas prévias de abandono do tabagismo, o que motivou ao uso de tabaco, qual marca de cigarro fuma e se tem histórico de depressão na família, dentre outros. O teste de Fagerström é um questionário com seis (6) perguntas que fornecerá o grau de dependência de nicotina, no qual, depois da leitura, deve-se assinalar no espaço em branco um X com a resposta que mais se encaixa no seu caso.

É importante ressaltar que a pesquisa não acarretará riscos a sua pessoa, embora possa ocorrer algum desconforto (ansiedade ou angústia) ao responder os questionários ou no momento da doação de sangue. A não concordância em participar deste estudo não irá alterar de maneira alguma a sua intenção voluntária de doar sangue. Não haverá custos, cobrança ou pagamento para quem participar deste estudo.

Os testes e a coleta de sangue ocorrerão no Hemocentro Regional, banco de sangue da cidade de Passo Fundo, RS, em uma sessão com dia e horários fixos, sendo a doação de sangue em uma única coleta, diretamente realizada pelos funcionários do banco de sangue. Asseguramos desde já o sigilo e anonimato

absoluto, acerca de todas as informações coletadas durante a pesquisa e a privacidade quanto aos dados confidenciais da mesma.

Os resultados da pesquisa serão comunicados através de publicações científicas e de participações em eventos científicos, preservando a imagem e a auto-estima da população pesquisada. Caso algum participante queira ter acesso aos seus resultados, eles serão fornecidos individualmente em entrevista previamente agendada junto à pesquisadora. Maiores informações poderão ser adquiridas junto à pesquisadora Vanessa A. dos Santos no telefone (51) 3320-3000 no ramal 2364, e seu orientador Dr. José M. Chatkin, no telefone (51) 3320-3000 no ramal 3378.

## ANEXO B

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, \_\_\_\_\_,  
abaixo assinado, concordo em participar da pesquisa intitulada “**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO Gln223Arg DO RECEPTOR DA LEPTINA COM ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E STATUS TABÁGICO**”, além de amostra de sangue que será coletada diretamente pelos funcionários do Hemopasso no momento da doação, em coleta única.

Estou ciente que este trabalho implica em comparecer uma única vez para entrevista, aplicação do questionário e para coleta de sangue.

Foi-me informando e assegurado: o anonimato e confidencialidade das informações por mim prestadas durante o estudo; o direito de me retirar do estudo, sem que isto implique em nenhum prejuízo para minha pessoa, e que poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão se assim eu o desejar; caso existam danos a minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei o direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa; orientações sobre o que é a pesquisa e seus objetivos de maneira clara e detalhada; caso eu tiver novas perguntas sobre o estudo, posso chamar o pesquisador ao telefone para qualquer pergunta; que recebi e li a carta informativa detalhando o estudo e meus direitos.

Assinatura: \_\_\_\_\_

Passo Fundo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2004.

## **ANEXO C**

### **Crítérios do Hemopasso para doação de sangue**

#### **Exigências para o Doador:**

- Apresentar documento de identidade com foto (carteira de identidade, profissional ou de motorista);
- Idade entre 18 e 65 anos;
- Peso mínimo de 50 kg;
- Não estar em jejum;
- Não ter ingerido bebida alcoólica 24 horas antes da doação;
- Não ter fumado cigarro pelo menos duas horas antes da doação;
- Gozar de boa saúde;
- Não ter doado sangue nos últimos 90 dias para homens e 120 dias para mulheres;
- Não ter se submetido a grandes cirurgias nos últimos seis meses, pequenas cirurgias nos últimos três meses ou extração e tratamento dentário nas últimas 72 horas;
- Não ter apresentado manifestações ativas de alergias ou asma;
- Não ter recebido transfusão nos últimos 12 meses;
- Não estar gripado ou com febre;
- Não ter tido hepatite ou icterícia;
- Não ter tido doença de Chagas, sífilis ou malária;
- Não ter feito tatuagem e/ou piercing nos últimos 12 meses.

#### **Fluxograma da coleta de sangue**

- Recepção: é preenchido um cadastro com os dados pessoais.
- Micro-hematócrito (pré-triagem): exames de verificação de peso, altura, pressão arterial e anemia.
- Triagem: entrevista médica.

- Sala de coleta: em torno de 10 minutos são coletados aproximadamente 420 ml de sangue.
- Sala de lanche: após a doação é oferecido um lanche ao doador.

### **Etapas de liberação do material biológico para a doação**

**Fracionamento:** separação dos componentes do sangue

- Concentrado de hemácias: destinado a pessoas com anemia ou hemorragias. A bolsa tem duração de 35 dias.
- Concentrado de plaquetas: destinados a pessoas com leucemia ou problemas de coagulação. A bolsa tem duração de 5 dias.
- Plasma: utilizado para repor volume e/ou proteínas. A bolsa tem duração de 12 meses.

**Imunologia:** tipagem sanguínea (sistema AB0 e fator RH).

**Sorologia:** exames de sífilis, doença de Chagas, hepatite B e C, HTLV, e HIV.

## ANEXO D

### Questionário - Entrevista

Nº paciente \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome do Entrevistado (completo): \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Procedência: \_\_\_\_\_ Naturalidade: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_ - \_\_\_\_

1. Sexo:

( ) masculino

( ) feminino

2. Idade atual (anos): \_\_\_\_\_

3. Escolaridade:

( ) Ensino Fundamental

( ) Ensino Médio

( ) Ensino Superior

4. Trabalho:

( ) ativo

( ) aposentado

( ) auxílio doença/desemprego

5. Renda familiar (nº em salários mínimos): \_\_\_\_\_

## 6. Etnia:

- caucasóide  
 não caucasóide

## 7. Estado Civil:

- com companheiro fixo  
 sem companheiro fixo

8. *Status* tabágico:

- não fumante  
 fumante  
 ex-fumante

9. Idade que começou a fumar (anos): \_\_\_\_\_

10. Quanto tempo de uso do tabaco: \_\_\_\_\_

11. Quantos cigarros fuma/dia: \_\_\_\_\_ e/ou nº de carteiras: \_\_\_\_\_

## ANEXO E

### Teste de Dependência Nicotínica de Fagerström

1. Quanto tempo depois de levantar da cama você fuma o seu primeiro cigarro?

( ) menos de 5 minutos (0 ponto)

( ) 6 a 30 minutos (1 ponto)

( ) 31 a 60 minutos (2 pontos)

( ) mais de 60 minutos (3 pontos)

2. Você considera difícil evitar fumar em locais onde isto é proibido (por exemplo, na igreja, biblioteca, cinema...)?

( ) sim (1 ponto)

( ) não (0 ponto)

3. A qual cigarro é mais difícil resistir?

( ) o primeiro do dia (1 ponto)

( ) qualquer outro (0 ponto)

4. Quantos cigarros você fuma por dia?

( ) 10 ou menos (0 ponto)

( ) 11 a 20 (1 ponto)

( ) 21 a 30 (2 pontos)

( ) 31 ou mais (3 pontos)

5. Você fuma mais freqüentemente nas primeiras horas depois de acordar do que durante o resto do dia?

( ) sim (1 ponto)

( ) não (0 ponto)

6. Você fuma se estiver doente a ponto de ficar de cama a maior parte do dia?

( ) sim (1 ponto)

( ) não (0 ponto)

### **Resultado do Teste**

<b>Pontuação</b>	<b>Classificação</b>
0 a 2 pontos	Muito baixa
3 a 4 pontos	Baixa
5 a 6 pontos	Moderada
6 a 7 pontos	Alta
8 a 10 pontos	Muito alta

## ANEXO F

### Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 0670/07-CEP

Porto Alegre, 18 de junho de 2007.

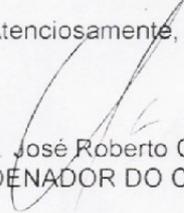
Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 06/03754, intitulado: **"Estudo do polimorfismo Q223R do receptor da leptina, índice de massa corporal e status tabágico"**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser entregues a este CEP.

Atenciosamente,

  
Prof. Dr. José Roberto Goldim  
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)  
Prof. Dr. José Miguel Chatkin  
N/Universidade

**PUCRS**

Campus Central  
Av. Ipiranga, 6690 - 3º andar - CEP: 90610-000  
Sala 314 - Fone Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [cep@pucrs.br](mailto:cep@pucrs.br)  
[www.pucrs.br/prppg/cep](http://www.pucrs.br/prppg/cep)

## **ANEXO G**

### **Cidade de Passo Fundo**

O município de Passo Fundo, situado no estado do Rio Grande do Sul é composto por aproximadamente 183.300 mil habitantes, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)(273).

O perfil étnico-populacional da amostra do município é considerado misto, oriundo das diversas origens que povoaram o RS ao longo da sua história, reproduzindo, assim, a média do perfil sócio-econômico cultural da população gaúcha.

As doenças do aparelho circulatório foram a principal causa de mortalidade na população em 2007, sendo responsáveis por 25,3% das mortes totais no município. Os dados descritos nas Tabelas 1 e 2 sintetizam as principais características físicas e demográficas do município de Passo Fundo, onde foi realizado o presente estudo.

**Tabela 1 - Dados gerais do município de Passo Fundo, RS.**

<b>Geografia</b>	
Área total (km <sup>2</sup> )	780
Latitude	291539
Longitude	522432
Altitude	687
Clima	Temperado/subtropical úmido
Temperatura média anual (°C)	17,5
<b>Infra-estrutura saúde</b>	
Hospitais	4
Leitos	837
<b>Mortalidade proporcional total (%)</b>	
Sistema Cardiovascular	25,3 %
Neoplasias	17,3%
Sistema Respiratório	16%
Sistema Digestório	7,8%
Doenças infecciosas parasitárias	7,4%
Outras	26,2
Total	100%

Fonte: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>

**Tabela 2 - Habitantes no município de Passo Fundo, RS, estratificados por idade, 2004.**

<b>Idade (anos)</b>	<b>Habitantes</b>
0 – 9	31.710
10 – 19	35.047
20 – 29	30.306
30 – 39	27.952
40 – 49	23.331
50 – 59	14.529
≥60	16.471

Fonte: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>