



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ- REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

ANTONIO CARLOS MENDES DE MOURA

**PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO TAQ1A NO GENE DO
RECEPTOR DE DOPAMINA DO TIPO D2 E SEUS POSSÍVEIS
EFEITOS EM UMA POPULAÇÃO DE TABAGISTAS DO NORDESTE
DO BRASIL**

**PARNAÍBA
2016**

ANTONIO CARLOS MENDES DE MOURA

**PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO TAQ1A NO GENE DO
RECEPTOR DE DOPAMINA DO TIPO D2 E SEUS POSSÍVEIS
EFEITOS EM UMA POPULAÇÃO DE TABAGISTAS DO NORDESTE
DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Linha de Pesquisa: Biologia Molecular

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Canalle.

PARNAÍBA
2016

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba
Serviço de Processamento Técnico

M929p Moura, Antonio Carlos Mendes de.
Prevalência do polimorfismo TAQ1A no gene do receptor de dopamina do tipo D2 e seus possíveis efeitos em uma população de tabagistas do nordeste do Brasil [manuscrito] / Antonio Carlos Mendes de Moura. – 2016.
85 f. : il. color.

Impresso por computador (printout).
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, 2016.
Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Renata Canalle.

1. Tabagismo. 2. Fumo. 3. Dependência de Nicotina. 4. Receptores de Dopamina D2. 5. Polimorfismo Genético. 6. Biotecnologia. I. Título.

CDD: 616.865

ANTONIO CARLOS MENDES DE MOURA

PREVALÊNCIA DO POLIMORFISMO TAQ1A NO GENE DO
RECEPTOR DE DOPAMINA DO TIPO D2 E SEUS POSSÍVEIS
EFEITOS EM UMA POPULAÇÃO DE TABAGISTAS DO NORDESTE
DO BRASIL

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Piauí, como requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de Concentração: Biologia Molecular

Aprovada em ____ de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Renata Canalle
Universidade Federal do Piauí (Orientadora)

Prof. Dr. Baldomero Antonio Kato da Silva
Universidade Federal do Piauí

Prof^a. Dr^a. Anna Carolina Toledo da Cunha Pereira
Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Fábio José Nascimento Motta
Universidade Federal do Piauí

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Piauí – UFPI. A pesquisa recebeu fomento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí – FAPEPI, por meio do Programa Pesquisa para o Sistema Único de Saúde – PPSUS (Edital Ministério da Saúde / Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq / Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí – FAPEPI – Nº 006/2009) e apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) por meio do Programa de Demanda Social (DS) e da Universidade Federal do Piauí – UFPI.

À Deus e aos meus amados... Pais, família,
namorada, PIB em Parnaíba e, sobretudo,
amigo Fábio Motta.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por estar comigo em todos os momentos e pelas exortações dadas por meio das Escrituras Sagradas que estiveram intrinsecamente ligadas ao esforço aplicado na realização deste trabalho. Além disso, agradeço-o pela vida.

Agradeço aos meus pais, Adalberto Mendes de Moura (*in memoriam*) e Maria Cristina Moura, pelo amor, carinho, atenção e por todo o esforço que fizeram para a minha formação. À minha mãe, Maria Cristina, em relação a este estudo, agradeço especialmente pelos ensinamentos sobre punção venosa que auxiliaram sobremodo na fase de realização das coletas. Aos demais familiares, pelo apoio e compreensão.

À Márcia e aos meninos por me receberem tão bem todas as vezes que precisei me deslocar à Teresina de passagem ao longo do mestrado.

Ao Jeremias e família, por me receberem em casa em Teresina, em definitivo, quando na época da mudança de cidade no período de finalização do mestrado.

À minha amiga de longa data, irmã na fé, e agora namorada, Rhamona Benigno, pela paciência, pelas orações, pelo apoio, por aliviar minhas tristezas, aumentar minhas alegrias, me auxiliar em tudo quanto pôde ao longo desses anos; por ter se disposto a cuidar dos documentos da fase final do mestrado, a imprimir esse trabalho e entregá-lo dando especial atenção a essa tarefa mesmo em meio à sua rotina de trabalho. Muito obrigado, linda. Você é preciosa pra mim.

Ao meu amigo, mestre e co-orientador, Fábio Motta. Tanto fez por mim ao longo desses anos que não tenho condições de retribuir. Obrigado por ter sido duro quanto aos meus atrasos, obrigado por me incentivar nos meus acertos, obrigado não apenas por ter indicado os caminhos pelos quais eu deveria seguir, mas principalmente pela confiança em ter me convidado a trilhá-los junto com o senhor.

Aos companheiros de laboratório, aos zeladores, vigilantes e técnicos laboratoriais da UFPI. Obrigado pelo auxílio em todos os momentos.

Ao Carlinhos, por ter se disponibilizado a ajudar-me no trabalho em bancada.

À galerinha da Pensão da Zilmar pela ótima convivência nesses últimos anos.

Aos amigos da 5ª turma de Biomedicina e aos amigos do mestrado. Vocês fizeram com que as responsabilidades se tornassem divertidas.

Ao professor Silmar pela pressão e muitas críticas construtivas na disciplina de Neuroplasticidade. Tudo foi muito útil para esse trabalho.

Aos familiares parnaibanos, também tantos, mas aqui represento-os no casal Luíza de Sousa Lopes e Carlos Alberto Rodrigues Araújo. Sem vocês essa realização não teria se concretizado. Agradeço a vocês imensamente.

Ao Janilson, Starlei, Francisco Júnior e Adriano, meus companheiros de Universidade e agora de trabalho, pela confiança de convidar-me ao INCURSOS e pela compreensão da necessidade de dedicação à apresentação do presente escrito.

À Primeira Igreja Batista em Parnaíba, na pessoa do Pr. Ricardo Sena e de sua esposa Alba Sena, pela acolhida, incentivo, aconselhamentos. Por fazerem com que eu me sentisse em casa, amado e cuidado. Obrigado por aproximarem-me dos ensinamentos de Jesus, incentivando-me à coerência que um aprendiz dele deve ter.

O espaço é curto, a gratidão é imensa. Obrigado a todos que embora não tiveram seus nomes citados aqui contribuíram para a conclusão do mestrado. Podem ter certeza que sou grato a vocês e, quando puder, agradecerei pessoalmente. Sinto-me privilegiado por ter convivido com tantas pessoas diferentes com as quais pude aprender preciosas lições nas mais diversas áreas da vida.

“Fazendo ele deste modo a sua defesa, disse Festo em alta voz: - Estás louco, Paulo! As muitas letras te fazem delirar!”.

(Lucas, o médico. Atos dos Apóstolos, trecho do capítulo 26 - Paulo perante Agripa)

RESUMO

O tabagismo é responsável por cerca de 6 milhões de mortes por ano, configurando-se assim como a principal causa de morte evitável no mundo. Variações genéticas que interferem na neurobiologia da dopamina, a exemplo do polimorfismo Taq1A, no gene do receptor da dopamina tipo D2 (*DRD2*), possivelmente intervêm no estabelecimento e manutenção do hábito tabágico. O presente estudo teve por objetivo realizar uma investigação epidemiológica molecular deste polimorfismo numa amostra populacional de tabagistas da cidade de Parnaíba-PI e verificar sua associação com o hábito tabágico. Foram analisados 135 fumantes e 135 não-fumantes pela técnica de PCR-RFLP. A distribuição das frequências genotípicas e alélicas e a associação do polimorfismo e o fenótipo tabagista foram avaliadas pelos testes do qui-quadrado (χ^2), Exato de Fisher e Odds Ratio (OR) com intervalo de confiança de 95%. O genótipo homocigoto selvagem A2/A2 (72; 53,33%) esteve em maior frequência entre os fumantes, enquanto que nos controles prevaleceu o genótipo heterocigoto A1/A2 (64; 47,41%). Em ambos os grupos houve uma maior proporção do alelo A2, 191 (70,74%) entre os fumantes e 168 (62,22%) no grupo controle; ambos os grupos se encontraram em Equilíbrio Hardy-Weinberg. Utilizando o modelo dominante da ação genética do alelo A1 foi possível observar diferença estatisticamente significativa quando se compararam as frequências genotípicas ($p = 0,01$, OR = 0,53, IC: 0,33-0,86 e $p = 0,01$) e alélicas ($p = 0,03$, OR = 0,68, 0,47 – 0,98 e $p = 0,05$) entre o grupo dos fumantes e o grupo controle. As frequências genotípicas e alélicas não diferiram de forma estatisticamente significativa quando analisadas sob o aspecto das diversas características do hábito tabágico. Os dados apontam para uma associação entre o polimorfismo Taq1A no gene *DRD2* e o comportamento dos não-fumantes.

PALAVRAS-CHAVE: Tabagismo. Dependência de Nicotina. Receptores de Dopamina D2. Polimorfismo genético.

ABSTRACT

Smoking is responsible for about 6 million deaths per year, which makes it the leading cause of preventable death in the world. Genetic variations that interfere with the neurobiology of dopamine, like the Taq1A polymorphism in the dopamine D2 receptor gene (*DRD2*), possibly modulates the establishment and maintenance of the smoking habit. This study aimed to carry out a molecular epidemiological investigation of this polymorphism in a sample of smokers in the city of Parnaíba-PI, checking their possible association with the smoking habit. 135 smokers and 135 non-smokers were analyzed by PCR-RFLP. The distribution of genotypic and allelic frequencies and the association of the polymorphism and tobacco phenotype were evaluated by chi-square test (χ^2), Exact Fisher and Odds Ratio (OR) with a confidence interval of 95%. The wild homozygous genotype A2/A2 (72; 53,33%) was in greater frequency among smokers, while the controls prevailed heterozygous genotype A1/A2 (64; 47,41%). In both groups there was a higher proportion of allele A2, 191 (70,74%) among smokers and 168 (62,22%) in the control group; both groups are in the Hardy-Weinberg equilibrium. Using the dominant model of the genetic action of the A1 allele was observed statistically significant difference when comparing the genotypic frequencies ($p = 0,01$, OR = 0,53, CI: 0,33 to 0,86 and $p = 0,01$) and allelic ($p = 0,03$, OR = 0,68, 0,47 to 0,98 and $p = 0,05$) between the group of smokers and control group. Genotype and allele frequencies did not differ statistically significantly when analyzed under the aspect of the different characteristics of the smoking habit. The data point to a association between Taq1A polymorphism *DRD2* gene and the behavior of non-smoking.

KEYWORDS: Smoking. Tobacco Use Disorder. Dopamine D2 receptors. Genetic polymorphisms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Os dez maiores consumidores de cigarros do mundo.....	21
Figura 2. Estrutura química da nicotina.....	24
Figura 3. Vias centrais da dopamina.....	27
Figura 4. Mecanismos fisiológicos e moleculares envolvidos na dependência de fármaco.....	27
Figura 5. Estrutura esquemática dos receptores de dopamina.....	32
Figura 6. Região cromossômica do polimorfismo Taq1A.....	34
Figura 7. Digestão enzimática do produto da PCR (TaqI).....	42
Figura 8. Frequência alélica na amostra populacional.....	44
Figura 9. Frequência genotípica da amostra populacional.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estimativa da herdabilidade para diferentes componentes do tabagismo.....	30
Tabela 2. Sequência dos primers para amplificação da região de interesse do gene <i>DRD2</i>	38
Tabela 3. Programa de amplificação do polimorfismo Taq1A do gene <i>DRD2</i>	39
Tabela 4. Genotipagem e perfis de banda.....	40
Tabela 5. Protocolo de revelação em gel de poliacrilamida.....	40
Tabela 6. Dados descritivos do comportamento tabagista.....	43
Tabela 7. Frequência genotípica, alélica e teste do qui-quadrado (χ^2) no grupo controle para o polimorfismo no gene <i>DRD2</i>	44
Tabela 8. Frequência genotípica, alélica e teste do qui-quadrado (χ^2) no grupo fumante para o polimorfismo no gene <i>DRD2</i>	45
Tabela 9. Características genéticas da população para o polimorfismo no gene <i>DRD2</i>	45
Tabela 10. Análise das características relacionadas ao hábito tabagista para o polimorfismo do gene <i>DRD2</i>	46
Tabela 11. Prevalência do polimorfismo Taq1A em diferentes populações.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMB – Associação Médica Brasileira

C – Base nitrogenada citosina

D2 – Receptor de dopamina tipo 2

DNA – Ácido desirribonucleico

dNTPS – Desoxinucleotídeos trifosfatados

DPOC – Doença pulmonar obstrutiva crônica

DRD2 – Gene codificador do receptor de dopamina tipo 2

FTND – *Fagerström Test for Nicotine Dependence*/Teste de Fagerström para a Dependência da Nicotina

H₂O – Água

HHS – United States Department of Health and Human Services

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC – Intervalo de confiança

INCA – Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva

OMIM – Online Mendelian Inheritance in Man

OR – *Odds Ratio*

pb – Pares de base

PCR – *Polimerase chain reaction*/Reação em cadeia da polimerase

PI – Piauí

RFLP – *Restriction Fragment Length Polymorphism*/Polimorfismo do Comprimento de Fragmento de Restrição

SLC6A3 – Gene codificador do transportador da dopamina

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – polimorfismo de nucleotídeo único

T – Base nitrogenada timina

μL – Microlitro

U.S. – *United States*/Estados Unidos da América

VIGITEL – Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico.

WHO – *World Health Organization*/Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	16
2 - JUSTIFICATIVA	17
3 - OBJETIVOS	19
3.1 - OBJETIVO GERAL.....	19
3.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4 - REFERENCIAL TEÓRICO	20
4.1 - EPIDEMIOLOGIA DO TABAGISMO.....	20
4.2 - TABAGISMO E SAÚDE.....	23
4.3 - NICOTINA E DEPENDÊNCIA.....	24
4.4 - GENÉTICA E TABAGISMO.....	29
4.5 - POLIMORFISMO TAQ1A NO GENE <i>DRD2</i>	31
5 - METODOLOGIA	35
5.1 - TIPO DE ESTUDO.....	35
5.2 - PESQUISA TEÓRICA.....	35
5.3 - PARTE EXPERIMENTAL.....	35
5.3.1 - Aspectos éticos	36
5.3.2 - Critérios de inclusão	36
5.3.3 - Critérios de exclusão	36
5.3.4 - Natureza do estudo	37
5.3.4.1 - <i>Extração do DNA</i>	37
5.3.4.2 - <i>Desenho dos primers</i>	38
5.3.4.3 - <i>PCR</i>	38
5.3.4.4 - <i>RFLP</i>	40
5.3.5 - Determinações analíticas	40
5.3.6 - Análise estatística	41
6 - RESULTADOS	43

7 - DISCUSSÃO	47
8 - CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
APÊNDICES	76
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	77
APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO.....	78
ANEXOS	83
ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI.....	84

1 – INTRODUÇÃO

Referido como fator de risco para cerca de mais de 50 problemas de saúde, o tabagismo é reconhecido mundialmente como o maior fator de doença e morte evitável. Apesar disso, é praticado por aproximadamente 1 bilhão de pessoas no mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION [WHO], 2011; WHO, 2015).

Devido seu amplo espectro de agravo à saúde, ao longo dos anos desenvolveram-se vários estudos sobre os diversos aspectos do tabagismo. Pesquisas descrevem que a iniciação e manutenção da prática são influenciadas tanto por fatores ambientais quanto por fatores genéticos, com a influência destes superando a daqueles (BATRA *et al.*, 2003; ROSEMBERG, 2003; ERBLICH *et al.*, 2004; CHATKIN, 2006; BERGEN *et al.*, 2009).

As evidências mais consistentes são de que nas variações interindividuais da tabaco-dependência estejam implicados genes que interferem na metabolização da nicotina e na neurotransmissão dopaminérgica (HILDESHEIM *et al.*, 1997; BATRA *et al.*, 2003; ERBLICH *et al.*, 2004; BISELLI *et al.*, 2006).

Estudos do fundo genético do tabagismo podem melhorar as abordagens que objetivam cessação do fumo, ou identificar populações de risco em que as medidas de combate à iniciação do tabagismo devam ser mais energicamente implementadas (LERMAN *et al.*, 1999; ROSEMBERG, 2003; BERGEN *et al.*, 2009; VERDE *et al.*; 2011; KOLINS; ADCOCK, 2014).

No presente estudo foi realizada uma investigação epidemiológica molecular do polimorfismo Taq1A (rs1800497, C/T) do gene receptor de dopamina do tipo D2 (*DRD2*) em uma amostra populacional de tabagistas da cidade de Parnaíba, estado do Piauí, região nordeste do Brasil, a fim de averiguar sua frequência na população e a possível associação entre esse polimorfismo e determinadas características do hábito tabágico.

2 – JUSTIFICATIVA

A nível mundial é possível falar de uma epidemia do tabagismo na atualidade com contornos terríveis no que se refere a estimativa do número de mortes (GUINDON; BOISCLAIR, 2003; MARIE *et al.*, 2014; WHO, 2015). Não é recente, entretanto, a atenção que a comunidade científica dispensa a tal temática. Há vasta literatura sobre o assunto que toca as mais diversas áreas do conhecimento, como por exemplo, economia, neurologia, farmacologia e genética (ROSEMBERG, 2003; ALDRIGHI *et al.*, 2005; CHATKIN, 2006; PINTO, 2007; MEIRELLES, 2009; RANG *et al.*, 2012).

Ao observar, ainda que rapidamente, um panorama sobre o tabagismo compreende-se o interesse da academia no estudo de tal temática.

Dentre os muitos fatores que chamam a atenção da comunidade científica, destacam-se: o grande impacto econômico do cultivo e consumo do tabaco; a persistência na iniciação do tabagismo entre jovens ainda que com esclarecimento do dano à saúde e aumento do número de impostos; a grande dificuldade de cessação após estabelecido o quadro de dependência, e a grande variação no nível de dependência à nicotina entre pessoas expostas a fatores ambientais semelhantes (ROSEMBERG, 2003; CHATKIN, 2006; BONILHA *et al.*, 2014; ERIKSEN *et al.*, 2015; KLEINJAN; ENGELS; DIFRANZA, 2015; SOUZA CRUZ, 2015; ALASMARIA *et al.*, 2016; MENNIS *et al.*, 2016).

No que concerne ao enfrentamento dessa problemática, o combate à iniciação do tabagismo é capaz de estabilizar o número de fumantes, entretanto o número de mortes estimado só pode ser diminuído através da cessação. Os estudos do fundo genético do tabagismo são interessantes ao ponto que elucidam fatores inerentes ao mecanismo de dependência e, dessa forma, contribuem tanto para o combate à iniciação, quanto para a melhoria de abordagens de cessação, conforme supramencionado (BATRA, 2003; ROSEMBERG, 2003; CHATKIN, 2006; BENOWITZ *et al.*, 2009; PAWLINA *et al.*, 2014).

O polimorfismo genético Taq1A tem sido alvo de estudos de associação com tabagismo por estar implicado na alteração da neurotransmissão dopaminérgica, reconhecidamente o cerne orgânico das dependências. Entretanto, a literatura apresenta resultados conflitantes (ERBLICH *et al.*, 2004; SWAN *et al.*, 2005;

LAUCHT *et al.*, 2008; SIEMINSKA *et al.* 2009; KLEINJAN; ENGELS; DIFRANZA, 2015).

Frente aos dados supramencionados e à ausência de estudos quanto à constituição genética da população tabagista piauiense, no que concerne ao Taq1A, o presente estudo objetivou preencher tal lacuna do conhecimento, de forma que se forneçam dados que potencialmente contribuam na melhoria de abordagens de cessação e combate à iniciação.

3 – OBJETIVOS

3.1 – OBJETIVO GERAL

Realizar uma investigação epidemiológica molecular do polimorfismo Taq1A, no gene do receptor da dopamina tipo D2 (*DRD2*) em uma amostra populacional de tabagistas do Nordeste do Brasil, no município de Parnaíba (PI).

3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar levantamento de características do comportamento tabágico na população estudada.

Realizar levantamento do grau de dependência à nicotina entre os tabagistas.

Determinar a frequência genotípica e alélica do polimorfismo Taq1A, no gene *DRD2* no grupo de tabagistas e controles.

Verificar se as frequências genotípicas e alélicas diferem entre fumantes e não-fumantes.

Comparar as frequências genotípicas e alélicas obtidas com as observadas em outros estudos populacionais.

Comparar os genótipos do polimorfismo obtidos na população de tabagistas com variáveis como idade de início, frequência do hábito, tentativas de abandono do hábito e grau de dependência à nicotina.

4 – REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 - EPIDEMIOLOGIA DO TABAGISMO

O consumo regular de produtos do tabaco é reconhecido pela comunidade científica atualmente como uma doença crônica causada pela dependência a um alcaloide vegetal, a nicotina. Um longo caminho foi percorrido até isso. Por muito tempo o uso do tabaco expandiu-se sobremaneira em comparação ao seu emprego inicial. Após um grande lapso de tempo a compreensão de seus efeitos também aumentou, desencadeando um rígido combate ao tabagismo; alcançando dessa forma a conjuntura a qual muitas sociedades, incluindo a brasileira, estão acostumadas (ROSEMBERG, 2003; SILVEIRA; MIGOTT, 2007; DORNELLES, 2010; PANTANI *et al.*, 2012; WHO, 2013)

A prevalência mundial do tabagismo vem diminuindo ao longo dos anos desde a década de 1980. Os dados mais recentes indicam que a prevalência mundial está em torno de 21%, o que representa 1 bilhão e 127 milhões de fumantes (GUINDON; BOISCLAIR, 2003; MARIE *et al.*, 2014; WHO, 2015).

Embora o avanço alcançado através das medidas de combate ao tabagismo seja notável, a diminuição da prevalência mundial não significa necessariamente que a epidemia tabágica esteja controlada. Apesar de alguns países, como o Brasil, terem alcançado reduções significativas nas taxas de tabagismo, o aumento no consumo entre a população chinesa compensou as diminuições a nível mundial (Figura 1) (ERIKSEN *et al.*, 2015).

Tal fato combinado ao aumento da população mundial justifica o quadro presente em que as estimativas continuam a ser de aumento do número de fumantes, aproximando-se de 2 bilhões no ano de 2025 apesar da relativa estabilização do número de tabagistas a partir do ano de 2007 até a atualidade e da diminuição quando se considera períodos anteriores conforme supramencionado (GUINDON; BOISCLAIR, 2003; MACKAY *et al.*, 2012; MARIE *et al.*, 2014; WHO, 2015).

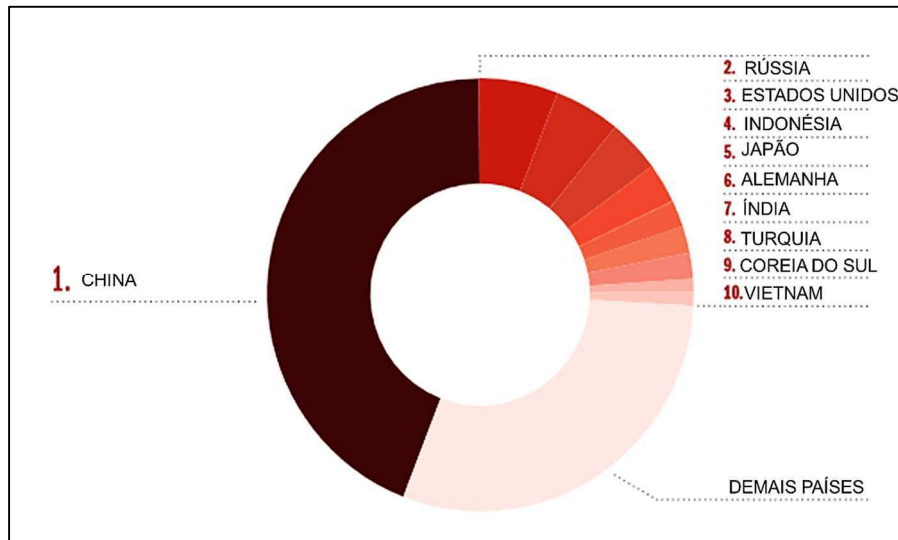


Figura 1 – Os dez maiores consumidores de cigarros do mundo. Atualmente China consome quantidade cigarros maior que a soma dos 29 maiores consumidores de cigarros (Adaptado de ERIKSEN *et al.*, 2015).

O número de mortes atribuíveis ao tabagismo é um dado alarmante: quase 6 milhões de pessoas por ano. Não obstante o malefício aos tabagistas, uma parcela desse número, 600 mil óbitos, são de não fumantes vitimados por danos advindos da exposição à fumaça de segunda mão (WHO, 2015b).

Caso a dinâmica atual se mantenha o quadro irá piorar. Estima-se que até 2030 a quantidade de óbitos atribuíveis ao tabagismo será de 8 milhões por ano (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES [HHS], 2015b). No Brasil, as mortes atribuíveis alcançam 147 mil casos anualmente (PINTO *et al.*, 2015).

A epidemia mundial do tabaco sofreu mudanças desde seu início. No começo do século XX o tabagismo estava praticamente restrito à população masculina adulta de classes sociais de maior poder aquisitivo. Apesar de com o tempo ter se popularizado entre as mulheres, voltou a crescer atualmente entre os homens (ALDRIGHI *et al.*, 2005; SANTOS, 2011; MARIE *et al.*, 2014).

O crescimento do tabagismo entre jovens e entre indivíduos de baixa renda foram mudanças na epidemia que se consolidaram. Particularmente no primeiro aspecto, destaca-se que a maioria dos fumantes atuais iniciou o hábito antes dos 18 anos de idade, ainda na adolescência (MIGOTT, 2007; HHS, 2015).

Atualmente a prevalência mundial de tabagismo entre indivíduos adultos do sexo masculino é de aproximadamente 31,1% e de 6,2% entre indivíduos do sexo feminino (MARIE *et al.*, 2014). A diferença entre as prevalências nos dois gêneros é

menor nos países desenvolvidos em comparação com os países em desenvolvimento (WHO, 2003; SANTOS, 2011; MARIE *et al.*, 2014; WHO, 2015).

O Brasil tem se destacado no cenário mundial pelos resultados que tem alcançado no combate ao tabagismo. A adoção de medidas de vigilância e monitoramento do consumo de produtos do tabaco resultou em diminuição significativa na prevalência do tabagismo (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA [INCA], 2015; WHO, 2015).

No território nacional, nos últimos 10 anos, o número de fumantes caiu 30,7% (BRASIL, 2015). O estudo mais recente indica que a prevalência de tabagismo no país entre pessoas com 18 anos ou mais é de 14,5%, sendo 18,9% entre homens e 11% entre mulheres. O estado do Piauí aparece com prevalência acima da média nacional (16,6%), sendo 22,6% entre os homens, e 11% entre as mulheres (IBGE, 2014).

A pesquisa supramencionada também demonstrou diferenças por nível de instrução e por faixa etária. Percentuais mais elevados de usuários atuais de tabaco aparecem entre as pessoas sem instrução ou com ensino fundamental incompleto (20,2%). Adultos com idade entre 40 e 59 anos apresentaram o maior percentual de tabagismo (19,4%) (IBGE, 2014).

Quanto ao fumo passivo, segundo o IBGE (2014) 10,7% da população brasileira está exposta à fumaça de segunda mão no ambiente domiciliar. A prevalência no território piauiense é um pouco maior (11,5%) (IBGE, 2014).

Mais da metade dos fumantes brasileiros deseja abandonar o tabagismo. Nesse quesito o percentual entre as mulheres (54,9%) é maior que entre os homens (50,6%) (IBGE, 2014).

A literatura científica relata que os fatores que levam à iniciação ao uso do tabaco são diversificados. Entre os principais estão a associação do cigarro com a ideia de autonomia, liberdade e sucesso, o desenvolvimento neuropsicológico, padrões específicos de personalidade e influências genéticas (CHATKIN, 2006; BRASIL, 2010; ECKERDT; CORRADI-WEBSTER, 2010).

Quanto à cessação, apesar do alto índice de desejo de abandonar o hábito, conforme supramencionado, apenas 5-10% dos fumantes alcançam esse objetivo. O fator implicado nisso é a dependência física e psicológica ocasionada pela nicotina. Na maioria das vezes ela faz a decisão do fumante de cessar sucumbir ao uso do tabaco (JAIN, 2003; KHURANA *et al.*, 2003; CHATKIN, 2006).

4.2 - TABAGISMO E SAÚDE

A forma mais comum de uso do tabaco é o cigarro, estima-se que 98% do consumo de tabaco deva-se a esse produto (SILVEIRA; DORNELLES, 2010; RANG *et al.*, 2012; WHO, 2014). Nele, são encontradas mais de 7000 substâncias tóxicas que afetam negativamente todos os sistemas do organismo humano (ERIKSEN *et al.*, 2015).

A fumaça do cigarro é composta por duas fases: uma gasosa, e outra particulada. A fase gasosa da fumaça do cigarro é composta principalmente por monóxido de carbono, formaldeído, acetaldeído e acroleína, entre outros produtos nocivos. A fase particulada da fumaça contém nicotina e alcatrão, que concentra ao menos 69 substâncias cancerígenas (ERIKSEN *et al.*, 2015; INCA, 2015b).

Segundo a Diretriz da Associação Médica Brasileira para tratamento do tabagismo (2009), os danos à saúde relacionados ao hábito de fumar ocorrem principalmente no sistema respiratório (aqui se inclui a doença pulmonar obstrutiva crônica – DPOC), no cardiovascular (no qual o tabagismo está ligado, dentre outras doenças à aterosclerose, acidente vascular encefálico e aneurisma), no digestivo (elencam-se aqui o refluxo gastroesofágico, a úlcera péptica e a cirrose hepática) e no genitourinário (destacando-se disfunção erétil, infertilidade e nefrite).

Também citam-se entre os malefícios principais o desenvolvimento de neoplasias malignas (cavidade oral, faringe, esôfago, estômago, pâncreas, cólon, reto, fígado, vias biliares, rins, bexiga, mama, colo de útero, vulva e leucemia mieloide). Além disso o tabagismo causa problemas específicos na gravidez e sobre o feto (infertilidade, abortamento espontâneo, descolamento prematuro da placenta, pré-eclampsia, gravidez tubária, menor peso ao nascer, parto prematuro, natimortos, mortalidade neonatal e malformações congênitas) (AMB, 2009).

A Diretriz também cita outros problemas sem classificá-los, como o envelhecimento da pele, osteoporose, artrite reumatóide, doença periodontal, cárie dental, estomatites, leucoplasias e queda das defesas imunitárias (AMB, 2009).

As relações entre o tabagismo e essas doenças são demonstradas por vasta literatura (ROSEMBERG, 2003; ALDRIGHI *et al.*, 2005; FRAGA *et al.*, 2005; BOEIRA; JOHNS, 2007; PINTO, 2007; AZEVEDO *et al.*, 2009; ERIKSEN *et al.*, 2015).

O cigarro também causa prejuízos à saúde dos não-fumantes expostos à sua fumaça. O tabagismo passivo é a terceira maior causa evitável de morte no mundo. No fumante passivo, a depender da exposição, podem ocorrer diminuição da capacidade funcional respiratória, câncer do pulmão, infarto do miocárdio e angina pectoris, além dos riscos específicos à mulher fumante passiva, como câncer de mama e do colo do útero. Ademais, em função da absorção cutânea da nicotina, até em sua produção o tabaco prejudica a saúde daqueles que entram em contato com ele (ROSEMBERG, 2003; AMB, 2009; ERIKSEN *et al.*, 2015).

Em função das doenças tabaco-relacionadas, advindas da constante exposição às substâncias tóxicas do cigarro, o fumante tem expectativa de vida cerca de 10 anos menor que o indivíduo que não fuma (ERIKSEN *et al.*, 2015).

Conforme supramencionado, as mortes relacionadas ao tabagismo chegam aproximadamente a 6 milhões por ano no mundo (WHO, 2014). No Brasil, em 2011, o tabagismo foi responsável por mais de 140 mil óbitos, quase 15% do total de mortes ocorridas no país (PINTO *et al.*, 2015).

4.3 - NICOTINA E DEPENDÊNCIA

A nicotina é um alcalóide oriundo do tabaco que possui efeitos neuroquímicos diversos. A dependência à nicotina descreve a situação em que o usuário dessa substância já não possui controle sobre seu consumo. Todos os fármacos que causam dependência têm efeitos importantes sobre o sistema nervoso central (SNC), a principal ação para o desenvolvimento de dependência é a ativação da via da recompensa, a via dopaminérgica mesolímbica (BERRETTINI; LERMAN, 2005; HURT *et al.*, 2009; RANG *et al.*, 2012; ASHARE; SCHMIDT, 2014).

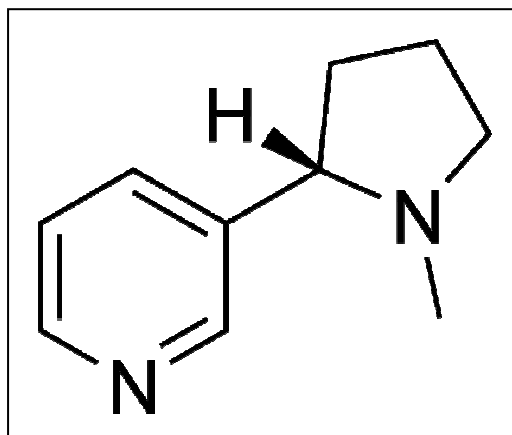


Figura 2. Estrutura química da nicotina (Adaptado de BENOWTIZ *et al.*, 2010).

O cigarro apresenta cerca de 8 a 9 mg de nicotina, dessa quantidade 1 a 1,5 mg tornam-se disponíveis por via sistêmica ao tabagista. Ela pode ser absorvida através da pele, mucosas e pulmões (ROSEMBERG, 2003; LIMA, 2004; MIGOTT, 2007; RANG *et al.*, 2012).

Dos aditivos do cigarro, muitos têm por objetivo liberar mais nicotina, conseqüentemente, estimulando de forma indireta maior liberação de dopamina no cérebro, proporcionando maior sensação de prazer ao fumante (ROSEMBERG, 2003; ROSE *et al.*, 2010; RANG *et al.*, 2012).

Um dos determinantes da intensidade do efeito inicial de uma droga é a rapidez com a qual ela alcança o cérebro. O ato de fumar está entre as vias mais rápidas de absorção de drogas. Ao ser inalada, a nicotina chega ao sistema nervoso central (SNC) em menos de 10 segundos (FURTADO, 2002; ROSEMBERG, 2003; LIMA, 2004; MIGOTT, 2007; RANG *et al.*, 2012).

Quando do uso do cigarro, a nicotina encontra-se em duas formas: uma fração situa-se na fase particulada (ligada a sais diversos) e outra na fase gasosa (livre). A segunda é mais rapidamente absorvida e causa maior impacto nos centros nervosos cerebrais (ROSEMBERG, 2003; ROSE *et al.*, 2010; RANG *et al.*, 2012).

Qualquer tipo de uso do tabaco gera dependência, porém a mais grave é desenvolvida fumando. Em poucas semanas o fumante torna-se usuário compulsivo do tabaco. A nicotino-dependência, entretanto, afeta indivíduos distintos em graus diferentes (ROSEMBERG, 2003; CHATKIN, 2006; BENOWITZ *et al.*, 2009; HENNINGFIELD *et al.*, 2009; PAWLINA *et al.*, 2014).

O nível de nicotino-dependência era inicialmente definido apenas pelo número de cigarros fumados por dia, no entanto conforme houve avanço científico no estudo do tabagismo notou-se que esse critério era muito restrito. Atualmente há diversos procedimentos para tal finalidade, um dos mais utilizados é o Teste de Fagerström para a Dependência da Nicotina (FTND — *Fagerström Test for Nicotine Dependence*) (FAGERSTRÖM, 1978; HEATHERTON *et al.*, 1991; CARMO; PUEYO, 2002; PAWLINA *et al.*, 2016).

O FTND é composto de seis questões, a pontuação vai de zero a 11, em que somatórias menores que três indicam dependência leve/baixa e pontuações maiores ou iguais a sete indicam dependência grave/alta. Mais que para fins de pesquisa científica, a aferição do nível de nicotino-dependência é utilizada para a escolha da abordagem para a cessação do hábito, seja simples aconselhamento ou

tratamento medicamentoso (BALBANI; MONTOVANI, 2005; ROSEMBERG, 2003; BERGEN *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2009; PAWLINA *et al.*, 2016).

A manutenção da dependência está ligada às sensações prazerosas do uso, à diminuição do efeito com a administração repetitiva da droga – tolerância –, à formação do hábito e à síndrome de abstinência, quando da retirada da droga (ROSE *et al.*, 2010; RANG *et al.*, 2012).

No SNC a nicotina age sobre os receptores nicotínicos da acetilcolina (nAChR) ativando-os. Os nAChR estão expressos na área anterior do tegmento, ponto de partida dos neurônios dopaminérgicos que se projetam para o núcleo *accumbens* (Via mesolímbica). Essa ativação, causa excitação da via mesolímbica e liberação de dopamina no núcleo *accumbens* e também inibe os reflexos espinais, causando relaxamento do músculo esquelético (MIGOTT, 2007; RANG *et al.*, 2012) (Figura 3). Dessa forma a nicotina produz efeitos ansiolíticos, eufóricos, de realce e melhora da memória, vigilância, cognição e ação antidepressiva e neuroestimulante (ROSEMBERG, 2003; ROSE *et al.*, 2010).

Periféricamente a nicotina estimula os gânglios autônomos, causando, por exemplo, taquicardia, aumento da pressão arterial e sudorese. Os efeitos periféricos declinam com o uso crônico, mas os centrais permanecem (MIGOTT, 2007; RANG *et al.*, 2012).

As funções cerebrais envolvem interações entre processos genéticos e o ambiente que são capazes de produzir alterações estruturais e funcionais em células nervosas específicas implicadas no processo de aprendizagem, este caracterizado pela capacidade de responder especificamente a um determinado estímulo (NÚCLEO EINSTEIN DE ÁLCOOL E DROGAS DO HOSPITAL ISRAELITA ALBERT EINSTEIN [NEAD], 2009a; MOTTA, 2009; MIWA *et al.*, 2011; PICCIOTTO; MINEUR; 2014).

As vias dopaminérgicas estão implicadas na dependência de drogas por estarem relacionadas à sensação de prazer e por regularem a aprendizagem no estriato, onde localiza-se o núcleo *accumbens* (LIMA, 2004; CHATKIN, 2006; NEAD, 2009b; RANG *et al.*, 2012).

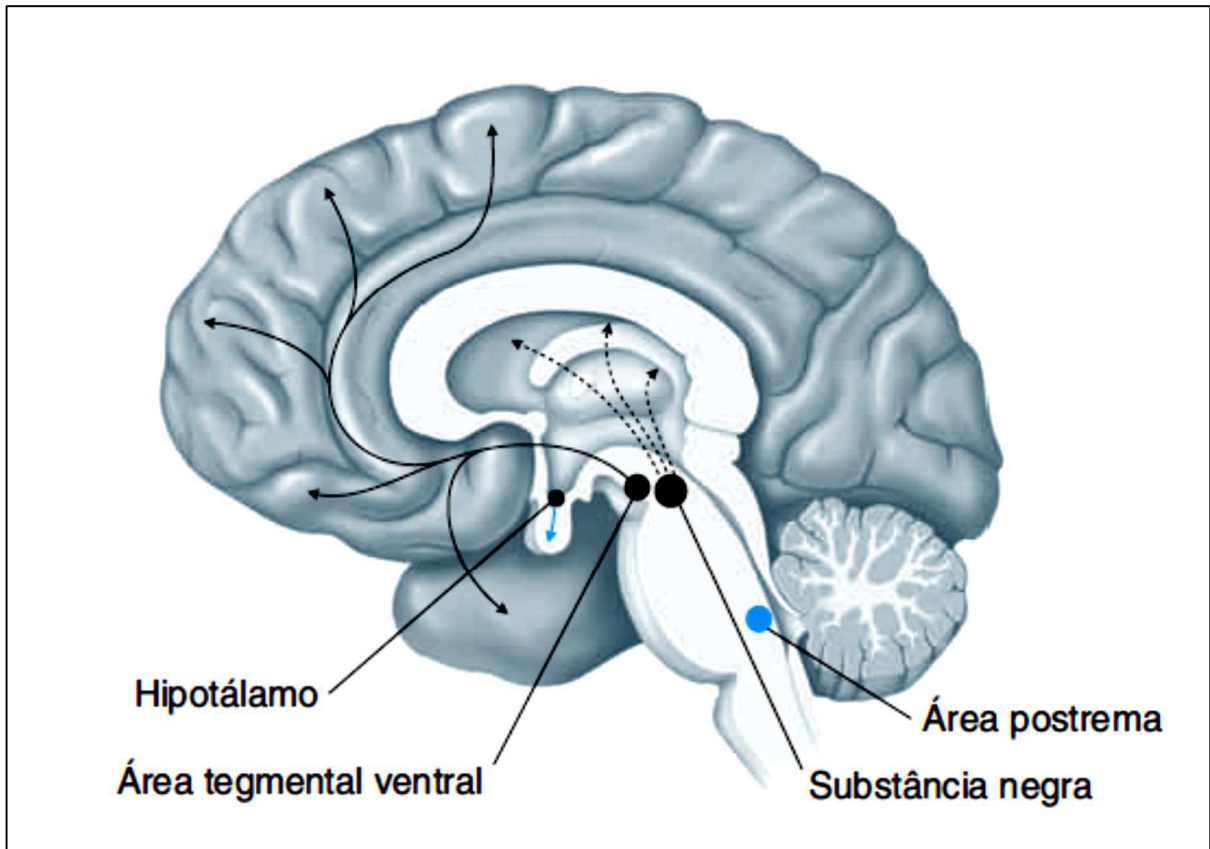


Figura 3 – Vias centrais da dopamina. Os neurônios dopaminérgicos originam-se de certos núcleos específicos no cérebro. Seta azul: originam no hipotálamo e projetam-se para a hipófise. Setas em pontilhado: da substância negra para o estriado. Setas pretas cheias. Entre outras funções a neurotransmissão dopaminérgica está envolvida na regulação do humor e do comportamento. A estimulação da área postrema pela dopamina causa vômito (Adaptado de GOLAN *et al.*, 2014).

O uso prolongado da nicotina leva à dessensibilização dos neurotransmissores acetilcolínicos e ao mesmo tempo ao aumento do número desses. O que acarreta tolerância, e por outro lado, hiperativação desses receptores em caso de abstinência (Figura 4) (MIGOTT, 2007; RANG *et al.*, 2012; PICCIOTTO; MINEUR; 2014).

	Utilização da "droga"		Abstinência	
Estado produzido	Estado tóxico agudo	Dias-semanas → Estado tóxico crônico	Abstinência aguda	Meses-anos → Abstinência crônica
Efeito	Recompensa	Tolerância, dependência	Síndrome da abstinência	Compulsão
Mecanismo	Ativação da via mesolímbica da DA Outras vias de recompensa?	Mudanças adaptativas nos receptores, transportadores, mensageiros secundários etc. (p. ex., ↑adenilato-ciclase, ↑ transportador de DA)	Mudanças adaptativas não compensadas (p. ex., ↓ DA, ↑ glutamato)	Desconhecidas

Figura 4 – Mecanismos fisiológicos e moleculares envolvidos na dependência de fármaco. DA: Dopamina. ↑: Aumento. ↓: Diminuição (Adaptado de RANG *et al.*, 2012).

O núcleo *accumbens* é uma área do cérebro responsável pelo prazer e pela procura de condutas que proporcionem prazer. Faz parte dos núcleos da base, que no cérebro humano e de animais são responsáveis por aspectos motores e não-motores do comportamento (SCALZO; TEXEIRA-JÚNIOR, 2009).

Após o aprendizado de um determinado comportamento dificilmente há eliminação do mesmo, ainda que sua manutenção tenha consequências indesejáveis para o organismo (LIMA, 2004; PLANETA; CRUZ, 2005; NEAD 2009b).

A capacidade de rearranjos neuronais permite a formação do hábito, por meio da associação dos estímulos da droga com condutas específicas. Em decorrência dessa capacidade o cérebro pode associar uma experiência agradável com a simples visualização de um cigarro. O que por sua vez exerce grande influência na manutenção do uso compulsivo da nicotina ou recaídas quando de seu abandono (LIMA, 2004; PLANETA; CRUZ, 2005; RANG *et al.*, 2012).

Embora todas as drogas que causam dependência, quando de sua retirada desencadeiem síndrome de abstinência, há sintomas específicos para cada droga ou grupo de drogas. Esses sintomas geralmente são o oposto dos efeitos que as drogas desencadeiam quando utilizadas, desse modo na síndrome de abstinência à nicotina aparecem bradicardia, aumento do apetite, ganho de peso, ansiedade, depressão e insônia dentre outros. Em fumantes que buscam cessar o hábito, a síndrome de abstinência é um fator decisivo para recaídas (JAIN, 2003; PLANETA; CRUZ, 2005; CHATKIN, 2006; NEAD 2009b).

Até a atualidade não foram elucidados todos os elementos e mecanismos que estão ligados à nicotino-dependência, mas não restam dúvidas de que sua origem e a variação em seus níveis têm bases orgânicas (ROSEMBERG, 2003; CHATKIN, 2006; ALASMARIA *et al.*, 2016). A via dopaminérgica, conforme supramencionado, recebe especial atenção. Demonstrou-se que antagonistas de dopamina como o haloperidol, por exemplo, aumentam o consumo de cigarros, enquanto que agonistas como a bromocriptina o diminuem (ERBLICH *et al.*, 2004).

Acredita-se que indivíduos que tem menor disponibilidade de dopamina, possuem maior necessidade de estimular sua liberação com substâncias exógenas, como a nicotina. De acordo com isso indivíduos com tal característica quando fumam, o fazem em maior quantidade, tendem a iniciar-se no tabagismo mais cedo e, quando da tentativa de cessação, tem grande dificuldade de abandonar o tabaco, ocorrendo o oposto com indivíduos que possuem disponibilidade maior de dopamina

(LERMAN *et al.*, 1999; SABOL *et al.*, 1999; CHATKIN, 2006; RANG *et al.*, 2012; RADEMACHERA *et al.*, 2015).

4.4 - GENÉTICA E TABAGISMO

Os diferentes modos de analisar o tabagismo, como um comportamento, como um fator de risco para inúmeras doenças ou como uma doença propriamente dita (Síndrome da Tabaco-dependência), contribuem para a diversidade dos estudos sobre esse tema (CHATKIN, 2006; MOTTA, 2009; ERIKSEN *et al.*, 2015).

Anteriormente atribuía-se o estabelecimento do tabagismo apenas a fatores ambientais, no entanto sabe-se atualmente que embora tais aspectos possam contribuir para o hábito, um fator determinante para o estabelecimento e manutenção do uso do tabaco é a dependência à nicotina (BATRA *et al.*, 2003; JAIN, 2003; CHATKIN, 2006; ALASMARIA *et al.*, 2016).

Como supramencionado, tal dependência possui variações interindividuais. Essas variações, bem como a constatação de que há uma parcela de consumidores de tabaco que não desenvolvem nicotino-dependência fizeram surgir o interesse pela avaliação do componente genético do tabagismo (BATRA, 2003; ROSEMBERG, 2003; CHATKIN, 2006; BENOWITZ *et al.*, 2009; PAWLINA *et al.*, 2014).

Sabe-se que uma das melhores maneiras de quantificação da influência do componente genético de uma determinada característica, é o seu estudo em gêmeos monozigóticos, dizigóticos e em situações de adoção (MOTTA, 2009; VULCZAK, 2013). Tais modelos permitem melhor a aferição da discordância fenotípica atribuível ao ambiente, em vista do compartilhamento genético entre os indivíduos (MOTTA, 2009; VULCZAK, 2013). A Tabela 1 apresenta um resumo de estudos para herdabilidade do tabagismo, a proporção da variância fenotípica em relação a essa característica que é atribuível a diferenças genéticas.

Além dos estudos com gêmeos e em situações de adoção, também se desenvolvem outras pesquisas com enfoque no tabagismo ou em doenças tabaco-relacionadas, como estudos do padrão de hereditariedade em genealogias, análises de ligação, estudos de associação e estudos de caso-controle (BATRA *et al.*, 2003; HAMDANI; ADES; GORWOOD, 2006; VULCZAK, 2013).

Tabela 1. Estimativa da herdabilidade para diferentes componentes do tabagismo

Fenótipo	Autores	Ano	Sexo	N	Herdabilidade estimada
Iniciação	Raaschou-Nielsen	1960	F	524	0,79
			H	370	0,84
	Medlund	1977	F	16 771	0,44
			H	15 603	0,51
Persistência	Medlund	1977	F	16771	0,59
			H	15603	0,52
	Kaprio	1984	F	171	0,71
			H	131	0,68
Dependência	True	1999	H	3356	0,60
	McGue	2000	F & H	626	0,60

Para fins de exemplificação: No estudo de RAASCHOU-NIELSEN (1960), o valor de 0,79 significa que 79% da variação observada na iniciação do tabagismo na população estudada foi devida a influência genética (Adaptado de HAMDANI; ADES; GORWOOD, 2006).

A literatura científica demonstra que vários genes podem estar implicados nos diferentes aspectos do tabagismo. As evidências mais consistentes são de que nas variações interindividuais da tabaco-dependência estejam implicados genes que interferem na metabolização da nicotina e na neurotransmissão dopaminérgica, enquanto que no desenvolvimento das doenças tabaco-relacionadas estejam implicados genes ligados ao metabolismo dos inúmeros constituintes tóxicos do cigarro (HILDESHEIM *et al.*, 1997; BATRA *et al.*, 2003; ERBLICH *et al.*, 2004; BISELLI *et al.*, 2006; VERDE *et al.*, 2011).

A influência ambiental para a iniciação costuma ser maior que a genética em mulheres e indivíduos jovens, no entanto é interessante notar que os genes também podem interferir na maneira como cada indivíduo reage a estímulos ambientais (HHS, 1998a; ROSEMBERG, 2003; HORIMOTO *et al.*, 2012). A influência do gene *TPH*, por exemplo, pode tornar mais precoce o desejo de fumar. Pessoas com variantes desse gene começam a fumar de 3 a 5 anos antes que a média (LERMAN *et al.*, 2001; ROSEMBERG, 2003; REUTER *et al.*, 2007).

Polimorfismos¹ nos genes envolvidos no metabolismo da nicotina podem propiciar efeitos adversos mais intensos aos indivíduos que estão iniciando o hábito de fumar, bem como influenciar na quantidade de cigarros consumida, já que o nível sérico de nicotina é alterado por seus produtos. Nesse campo vem sendo estudado o gene *CYP2A6*, que regula a nível hepático a enzima transformadora de nicotina em cotinina (BATRA *et al.*, 2003; ROSEMBERG *et al.*, 2003; CHATKIN, 2006; VERDE *et al.*, 2011).

As diferenças encontradas entre indivíduos no que concerne aos genes que possuem produtos importantes para o sistema dopaminérgico e colinérgico interferem na resposta orgânica à nicotina, e com isso na iniciação e manutenção do tabagismo, bem como no tratamento para deixar de fumar. Cita-se nessa área variantes do gene *DRD2*, que podem produzir maior desejo por fumar e variantes do gene *SLC6A3*, que tem a possibilidade de conferir a alguns indivíduos menor tendência a fumar e menor reincidência quando cessam (LERMAN *et al.*, 1999; ROSEMBERG, 2003; BERGEN *et al.*, 2009; VERDE *et al.*; 2011; KOLINS; ADCOCK, 2014).

4.5 - POLIMORFISMO TAQ1A NO GENE *DRD2*

Variantes do gene *DRD2* vem recebendo atualmente atenção da comunidade científica nos estudos de investigação de componente genético em condições patológicas como a depressão e a fármaco-dependência (PEARSON-FUHRHOP *et al.*, 2014; AHRENS *et al.*, 2015; COLIZZI *et al.*, 2015; DELIS *et al.* 2015).

Ao longo da pesquisa bibliográfica realizada no presente estudo foram encontrados 20 polimorfismos relacionados ao gene *DRD2*, sendo o Taq1A (C32806T, rs1800497) o mais estudado no que concerne à dependência a substâncias como o álcool e o tabaco (COMINGS; BLUM *et al.*, 1990; BLUM, 2000; HAMAJIMA *et al.*, 2002; HALLIKAINEN *et al.*, 2003; OMIM, 2015).

¹ Segundo o banco de dados de Descritores em Ciências da Saúde (2015) polimorfismo genético (ID: D011110) é definido como a ocorrência regular e simultânea de dois ou mais genótipos descontínuos em uma única população que está se multiplicando. O conceito inclui diferenças em genótipos variando em tamanho de um local contendo um único nucleotídeo (Polimorfismo de Nucleotídeo Único - SNP) a uma grande sequência de nucleotídeos visível num nível cromossômico.

Localizado próximo à região 3' do gene, associa-se esse polimorfismo a uma drástica mudança na densidade de receptores D2 de dopamina no cérebro (POHJALAINEN *et al.*, 1998; JONSSON *et al.*, 1999), mecanismo pelo qual acredita-se que o Taq1A interfira na dependência a substâncias, visto que densidade desses receptores é de grande importância para o funcionamento normal da neurotransmissão dopaminérgica (GOLAN *et al.*, 2014).

Os receptores de dopamina pertencem a um grupo de proteínas receptoras acopladas à proteína G e, tipicamente, exibem sete domínios transmembranares. Há cinco proteínas receptoras de dopamina (D1, D2, D3, D4 e D5), cada uma codificada por um gene diferente (RANG *et al.*, 2012; GOLAN *et al.*, 2014).

Essas proteínas apresentam distribuições diferentes no cérebro e são classificadas de acordo com o efeito acarretado sobre a formação de AMP cíclico quando de sua ativação. A saber, os receptores da classe D1 (D1 e D5) aumentam a formação do cAMP, enquanto que os da classe D2 (D2, D3 e D4) a diminuem/inibem (Figura 5) (COLOMBO, 2014; GOLAN *et al.*, 2014).

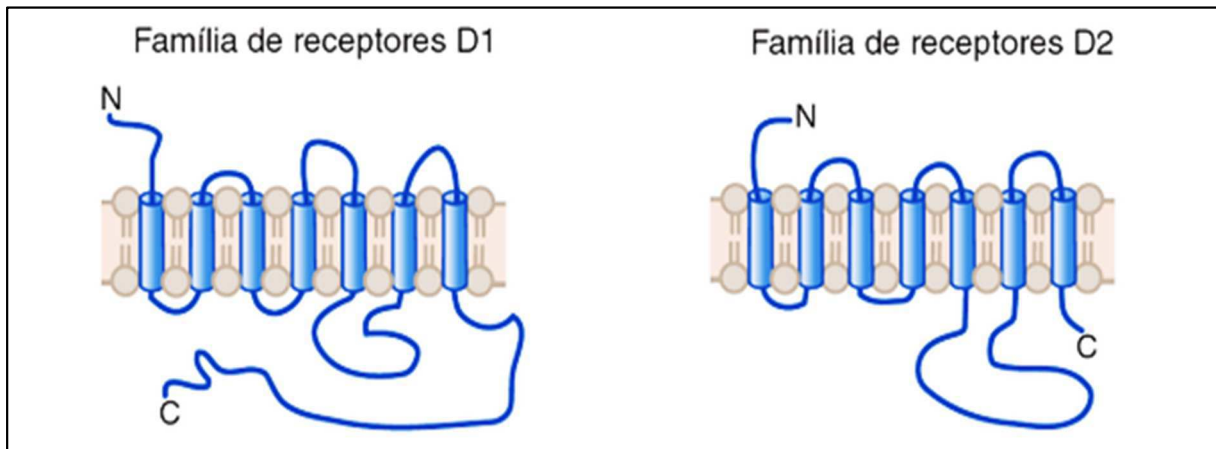


Figura 5. Estrutura esquemática dos receptores de dopamina. A família do receptor D1 apresenta uma longa cauda C-terminal e uma alça citoplasmática curta entre as hélices 5 e 6 transmembrana, enquanto a família do receptor D2 apresenta uma cauda C-terminal curta e uma longa alça citoplasmática entre as hélices 5 e 6 (Adaptado de BRUTON *et al.*, 2012).

A maioria dos receptores dopaminérgicos são expressos nos neurônios pós-sinápticos. O gene *DRD2* codifica especificamente o receptor de dopamina D2, também presente em neurônios pré-sinápticos e, expresso em altos níveis no estriado e *nucleus accumbens*. O gene codifica duas isoformas, que parecem desempenhar funções distintas, uma forma mais curta, D2S e uma mais longa, D2L; essa encontra-se nos sítios pós-sinápticos (possivelmente relacionada à

transmissão do impulso nervoso) e aquela, nos pré-sinápticos (relacionada à inibição do impulso) (USIELLO *et al.*, 2000; LINDGREN *et al.*, 2003; RANG *et al.*, 2012; GOLAN *et al.*, 2014).

O Taq1A *DRD2* é um polimorfismo bialélico: o alelo A1, menos frequente, caracterizado por uma Timina (T) e o alelo A2, mais comum, caracterizado pela presença de uma citosina (C). Estudos *post mortem* e estudos de ligação *in vivo* indicam que indivíduos com pelo menos um alelo A1 apresentam até 40% menos receptores D2 na região do estriado, no sistema nervoso central, em relação a indivíduos homozigotos para o alelo A2 (NOBLE *et al.*, 1991; THOMPSON *et al.*, 1997; LARUELLE *et al.*, 1998; POHJALAINEN *et al.*, 1998; JONSSON *et al.*, 1999; RITCHIE; NOBLE, 2003).

O Taq1A desperta o interesse da comunidade científica no que concerne à fármaco-dependência há quase 30 anos. Inicialmente, estudou-se sua relação com o alcoolismo (BLUM *et al.*, 1990), e posteriormente, vários estudos foram surgindo com o escopo de investigar a ligação desse polimorfismo com outras substâncias de uso abusivo (NOBLE *et al.*, 1994; OMIM, 2015). A associação do Taq1A com o tabagismo ainda é algo inconsistente na literatura e vem apresentando resultados contraditórios (YOSHIDA *et al.*, 2001; ERBLICH *et al.*, 2004; SWAN *et al.*, 2005; LAUCHT *et al.*, 2008; SIEMINSKA *et al.*, 2009; KLEINJAN; ENGELS; DIFRANZA, 2015).

Para fins de esclarecimento, faz-se necessário ressaltar que o Taq1A também é referido na literatura como polimorfismo *DRD2-ANKK1* (*Ankyrin repeat and kinase domain containing 1*), no entanto, utilizando o mesmo número de acesso no dBSNP de quando é citado apenas como polimorfismo no gene *DRD2* (rs1800497, C/T) (OMIM, 2008; OMIM, 2015).

Tal ocorrência deve-se aos resultados de Neville e colaboradores (2004). Essa equipe de pesquisadores observou que o polimorfismo Taq1A localiza-se a 10 kb *downstream* do gene *DRD2*, próximo à sua extremidade 3', e propuseram que o polimorfismo pudesse se encontrar numa região regulatória do genoma. Os resultados da equipe de pesquisadores indicaram que o polimorfismo se encontra no éxon 8 do gene *ANKK1* (Figura 6).

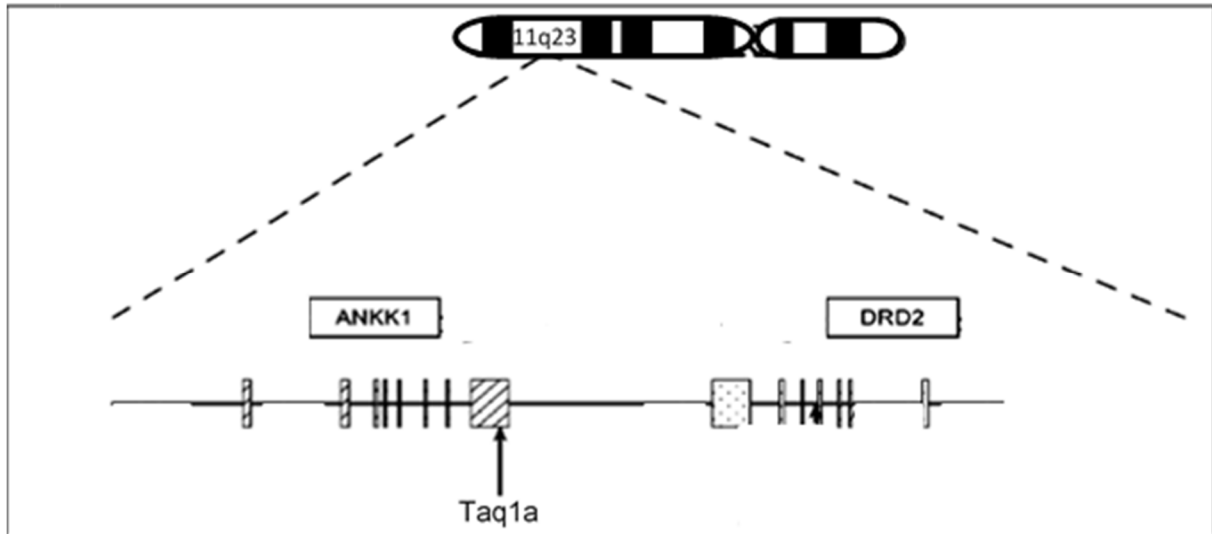


Figura 6. Região cromossômica do polimorfismo Taq1A. Cromossomo 11; as barras verticais representam os éxons (Adaptado de LAVEDAN *et al.*, 2015).

A despeito de resultados contraditórios e da controvérsia em torno de sua localização genômica, o Taq1A é um excelente candidato para pesquisas no âmbito do componente genético do tabagismo e vem recebendo atenção da comunidade científica. Isso se deve à sua grande influência no funcionamento do sistema dopaminérgico, cerne do desenvolvimento da fármaco-dependência, conforme mencionado acima.

5 - METODOLOGIA

5.1 - TIPO DE ESTUDO

Estudo de caso-controle do tipo observacional descritivo em abordagem quantiquantitativa.

5.2 - PESQUISA TEÓRICA

Realizou-se extensa pesquisa bibliográfica utilizando bancos dados de informação técnico-científica de instituições nacionais e internacionais para a obtenção de artigos e bibliografia específicos na área de biologia molecular e genética, com a finalidade de ampliar o conhecimento prévio e obter novas informações sobre o gene *DRD2*, seus polimorfismos, associações genótipo-fenótipo, bem como sobre as características do tabagismo, do tabaco, de sua prevalência e de doenças associadas.

5.3 - PARTE EXPERIMENTAL

O estudo em laboratório foi realizado utilizando amostras de DNA obtidas a partir de células do sangue periférico de indivíduos não tabagistas e tabagistas preferencialmente admitidos para tratamento e acompanhamento em instituições municipais de referência em atendimento dos usuários de tabaco e Hospitais da região de Parnaíba, no estado do Piauí, nordeste do Brasil.

Assumindo os dados do estudo “Vigilância em Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) (BRASIL, 2010), realizado em 2009 pelo Ministério da Saúde em que 15,5% da população adulta brasileira é tabagista e que a cidade de Parnaíba, segundo o IBGE, possui uma população residente de 145 705 pessoas (IBGE, 2009), foi realizado o cálculo do tamanho amostral revelando a necessidade de um número amostral de aproximadamente 200 tabagistas.

O tamanho amostral foi calculado de acordo com a fórmula $n = z^2 \times \frac{(p \times q)}{d^2}$. Nesse cálculo $z = 1,96$, q a proporção de indivíduos fumantes na

população e d o erro, considerado aqui igual a 5%. Este número amostral não foi alcançado em função de algumas dificuldades encontradas como a recusa na participação e o não enquadramento nos critérios de inclusão.

5.3.1 - Aspectos éticos

Atendendo à resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, que trata das diretrizes e normas para pesquisa envolvendo seres humanos (BRASIL, 2013), o projeto desta pesquisa foi submetido, avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí sob o nº 0235.0.045.000-10 (ANEXO A).

Antes de iniciar a coleta de dados o indivíduo era informado sobre a metodologia e objetivos do estudo, bem como recebia a informação de que lhe estava sendo garantido anonimato e liberdade de se retirar da pesquisa a qualquer momento, após este esclarecimento o indivíduo procedia ou não a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A) mediante, respectivamente, a sua livre decisão de participar ou não do estudo.

5.3.2 - Critérios de inclusão

Fizeram parte da pesquisa indivíduos do município de Parnaíba-PI que seguiram os critérios de inclusão que foram estabelecidos por Sieminska *et al.* (2009) em seu estudo de associação de variantes polimórficas de genes envolvidos com a neurotransmissão dopaminérgica e o tabagismo:

- Ser fumante atual (fumar diariamente ou ocasionalmente).
- Não fumante (indivíduo que nunca fumou)
- Ser maior de 18 anos

5.3.3 - Critérios de exclusão

A exclusão de indivíduos obedeceu à seguinte disposição:

- Não consentimento da coleta sanguínea, mesmo após resolução do questionário (possibilidade assegurada pelo item 2 do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE)

5.3.4 - Natureza do estudo

Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o participante procedia ao preenchimento do questionário semiestruturado que trata sobre o hábito tabágico, juntamente ao Teste de Fagerström para a Dependência da Nicotina. O Teste é composto de seis questões, a pontuação vai de zero a 11, em que somatórias menores que três indicam dependência leve/baixa e pontuações maiores ou iguais a sete indicam dependência grave/alta (APÊNDICE B).

Realizava-se punção venosa periférica em veia da região da fossa cubital e posteriormente a análise de genótipo pelas técnicas de PCR (*Polimerase Chain Reaction* / Reação em cadeia da polimerase) e RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism* / Polimorfismo do Comprimento de Fragmento de restrição). O questionário, os tubos com a amostra de sangue, o DNA extraído, o produto da PCR e o produto da digestão enzimática foram identificados por código alfanumérico específico para cada unidade amostral.

Na etapa de Análise do polimorfismo proposto ocorreu a conexão dos dados obtidos com a PCR-RFLP das amostras dos controles e dos tabagistas com as respostas de seus respectivos questionários e por fim com esses dados, realizou-se a etapa de Análise estatística para definir se havia associação entre o polimorfismo proposto e o hábito tabagista.

5.3.4.1 - Extração do DNA

O DNA foi extraído a partir do sangue total dos tabagistas e controles, utilizando o kit de extração de DNA (*Wizard® – Promega Corporation, Madison, USA*), conforme especificações do protocolo fornecido pelo fabricante.

A pureza do DNA foi determinada em gel de agarose a 2% corado com gel red®, com corrida eletroforética em corrente de 110v por 30 minutos. A visualização era feita em transluminador modelo L-PIX-HE (*LOCCUS® Biotecnologia, São Paulo, Brasil*) e a concentração determinada através de espectrofotômetro (*Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan*), por meio do comprimento de onda 260 e 280 nm. Em seguida, as amostras de DNA de trabalho eram diluídas até 50 ng/μl em água estéril e armazenadas em freezer específico para as amostras do projeto.

5.3.4.2 - Desenho dos primers

Os *primers* foram construídos a partir das sequências genômicas das regiões polimórficas do gene em questão obtidas no banco de dados de polimorfismos de nucleotídeo único do Centro Nacional de Informação Biotecnológica (*National Center for Biotechnology Information - NCBI*) da Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América (*United States National Library of Medicine - NLM*), *Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP)*. As informações foram acessadas no dbSNP a partir da entrada do número de acesso rs1800497 (Taq1A) (DBSNP, 2015).

Para a escolha do melhor par de *primers* utilizou-se o programa Primer3 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>) (ROZEN; SALETSKY, 2000). Utilizou-se o software Gene Runner, versão 5.0.996 (©1992-2015 Frank Buquicchio) para avaliação das melhores condições de uso dos *primers* com o objetivo de otimizar a reação de PCR.

A tabela 2 mostra os *primers* construídos para amplificar a região de interesse, com seu respectivo tamanho após a PCR.

Tabela 2. Sequência dos *primers* para amplificação da região de interesse do gene *DRD2*

Gene / Polimorfismo	Primer	Sequencia (5'-3')	Tamanho (pb)	Produto PCR (pb)
<i>DRD2</i> / Taq1A	<i>Foward</i>	CTAAATTTCCATCTCGGCTCCT	22	191pb
	<i>Reverse</i>	GCAACACAGCCATCCTCAAAG	21	

5.3.4.3 - PCR

A amplificação do fragmento de interesse ocorreu através da técnica PCR do gene *DRD2* realizada com os *primers* citados anteriormente, nas seguintes condições para um volume de 25µL: 14,1µL de H₂O MilliQ estéril, 2,5µL de tampão (20mM Tris-HCl, 50mM KCl, pH 8,4), 0,7µL (1,75mM) de MgCl₂, 5,0µL (0,2mM) de desoxinucleotídeos trifosfato (dNTPs), 0,7µL (10µM) de cada *primer*, 0,3µL (1,5U) de Taq DNA polimerase e 1,0µL (50 ng) de DNA genômico. Todos os reagentes utilizados foram adquiridos da *Ludwig Biotecnologia Ltda, Alvorada, Brasil*.

De acordo com a quantidade de amostras em cada ensaio realizou-se a adequação do protocolo supracitado multiplicando a quantidade de cada reagente pelo número de amostras mais o controle negativo. O preparo dos reagentes para

cada ensaio (*mix* de PCR) foi realizado em cabine de segurança biológica com fluxo laminar, utilizando-se microtubos de 1,5mL esterilizados em autoclave e colocados sob luz UV por 30 minutos antes do procedimento. Em seguida do preparo, distribuiu-se 24µl do *mix* em tubos de 250µl devidamente identificados com o número da amostra de DNA a ser amplificada ou com a letra “B” (Branco - controle negativo - contendo todos os reagentes, no entanto sem adição de DNA). Após adicionar o DNA genômico aos microtubos destinados para este fim, inseria-se o controle negativo e os demais tubos na placa do termociclador (*Amplitem Thermal Cyclers®*) para proceder a realização do programa de amplificação. Os passos do programa de amplificação encontram-se na tabela 3.

Tabela 3. Programa de amplificação do polimorfismo Taq1A do gene *DRD2*

Passos	Temperatura	Tempo	Ciclos
Desnaturação inicial	95°C	5 min	1
Desnaturação	95°C	1 min	35
Anelamento	59°C	45 seg	
Extensão	72°C	2 min	
Extensão final	72°C	4 min	1

Para verificação da amplificação os produtos da *PCR* e um marcador de peso molecular (*Ladder* – 100pb) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (na concentração de 2%) corado com gel red®. Para a corrida utilizava-se 5µl do produto de PCR com 1µL de corante BLUE (azul de bromofenol + xileno cianol + glicerol + água), mesma quantidade para o controle negativo, no entanto para o marcador de peso molecular utilizava-se 2µl sem o corante BLUE. A eletroforese foi realizada em cuba horizontal preenchida com tampão TBE 1x (tris + ácido bórico + EDTA), em corrente de 110 V por período de 30 minutos, em seguida os fragmentos amplificados foram visualizados em transluminador L-PIX-HE (*LOCCUS® Biotecnologia, São Paulo, Brasil*) com fonte de luz ultravioleta e fotografada para posterior análise visual. Ao final desse processo observou-se o produto de 191pb do gene *DRD2*.

5.3.4.4 - RFLP

Para a análise de RFLP submeteu-se 5µl do produto de PCR com 0,04µL da enzima de restrição *TaqI* (*New England BioLabs Inc, Ipswich, USA*) em 1,5µL do tampão específico (*NEBuffer4*), 5µL do aditivo BSA (*Bovine Serum Albumin*) e H₂O destilada para completar o volume de 15µL, em seguida a digestão foi incubada a 65°C por 16 horas em banho-maria.

5.3.5 - Determinações analíticas

O questionário semiestruturado devidamente preenchido contém informações que permitem a análise de características do hábito tabágico. A utilização da técnica de PCR-RFLP permite a análise do genótipo do indivíduo. Na presença do polimorfismo Taq1A do gene *DRD2* (Alelo A1), a enzima *TaqI* (*New England BioLabs Inc, Ipswich, USA*) não reconhece o sítio de restrição (5'-T▼CGA-3'), permanecendo o fragmento de 191pb resultante da amplificação na PCR, porém na presença do alelo selvagem (A2), a enzima reconhece o sítio, e após a digestão enzimática gera dois fragmentos de tamanhos diferentes (163 pb e 28 pb), possibilitando a diferenciação de três genótipos diferentes (Tabela 4).

Tabela 4. Genotipagem e perfis de banda

Gene / Polimorfismo	Genótipo	Perfis de banda
<i>DRD2</i> / Taq1A	A2/A2 (Homozigoto selvagem)	163pb, 28pb
	A1/A2 (Heterozigoto)	163pb, 28pb, 191pb
	A1/A1 (Homozigoto mutante)	191pb

Após a digestão, os produtos da *RFLP* foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 10% em cuba vertical preenchida com TBE 1x (Tris, EDTA e ácido bórico), aplicando-se uma corrente elétrica de 90V por 3 horas, em seguida corado com prata de acordo com o protocolo da Tabela 5, para identificação dos genótipos visualmente, em seguida armazenava-se a imagem em banco de dados (Figura 7).

Tabela 5. Protocolo de revelação em gel de poliacrilamida

Etapas do protocolo
1ª etapa: 200mL do fixador por 17min + 5mL de AgNO ₃ por 10min
2ª etapa: Lavagem do gel com H ₂ O (destilada)
3ª etapa: 200mL de revelador + 4mL de Formaldeído

Com a conexão desses dados (genótipos dos tabagistas e não tabagistas e dados obtidos com seus respectivos questionários) o estudo prosseguiu com a análise estatística.

5.3.6 - Análise estatística

As frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo de interesse foram determinadas por simples contagem. Para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg as distribuições genotípicas observadas e esperadas foram comparadas pelo teste do qui-quadrado. Para comparação entre as frequências gênicas e as características da população obtidas por meio do questionário foram usados os testes exato de Fisher e *Odds Ratio* (*OR*). Para que as diferenças fossem consideradas estatisticamente significativas, considerou-se $p < 0,05$. A análise dos dados foi realizada com os programas GraphPad Prism®, versão 5.0 (*GraphPad Software, San Diego, USA*) e Bioestat, versão 5.0 (AYRES *et al.*, 2007).

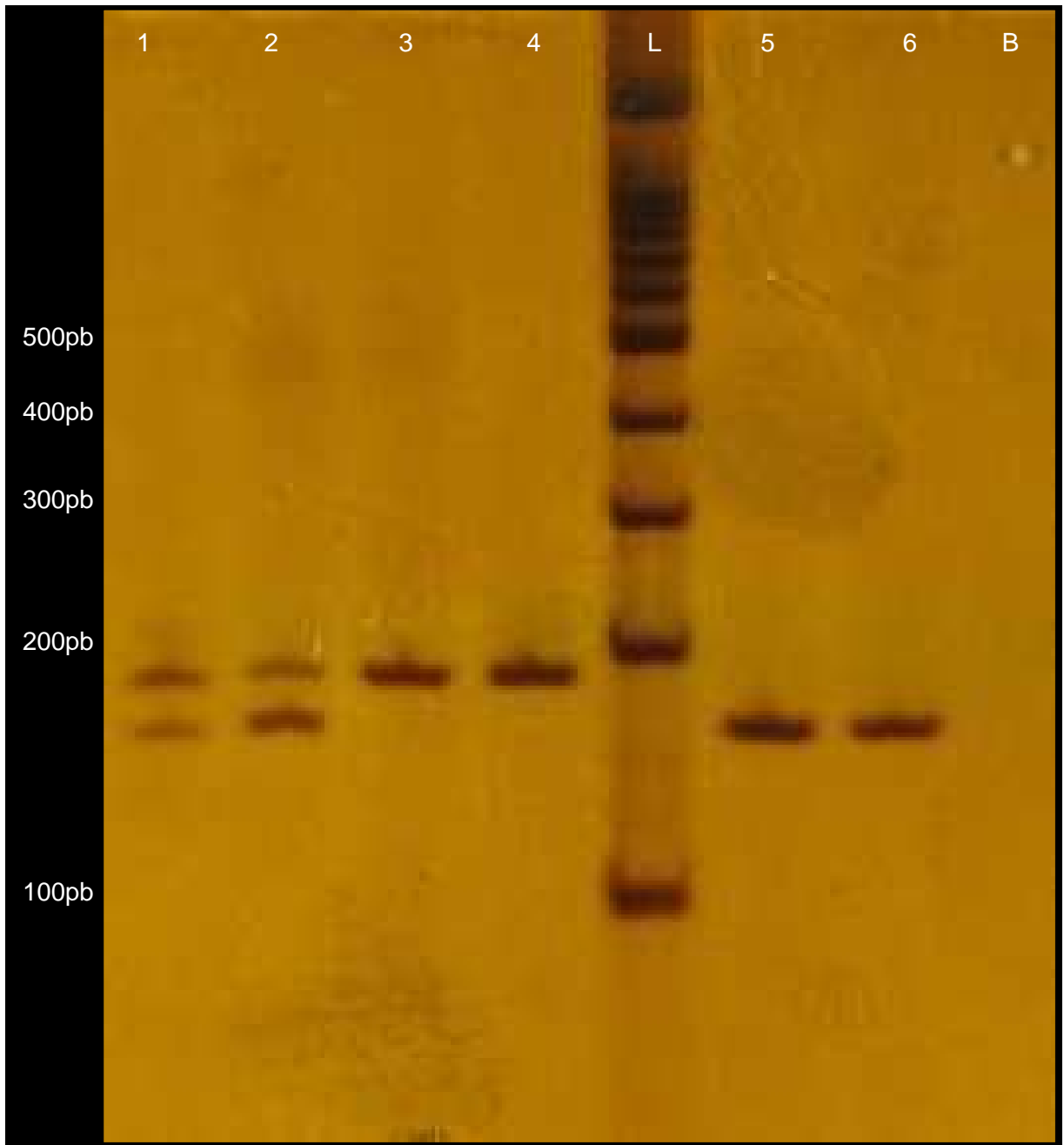


Figura 7. Digestão enzimática do produto da PCR (TaqI). Fotografia de aplicação dos produtos da digestão enzimática em gel de poliacrilamida (10%), corado com prata. Observam-se os três genótipos possíveis para o polimorfismo Taq1A no gene *DRD2*; Em 1 e 2 pode-se observar amostras de indivíduos heterozigotos (A1/A2; 28pb, 163pb, 191pb), em 3 e 4, de homozigotos mutantes (A1A1; 191pb), em 5 e 6 de indivíduos homozigotos selvagens (A2/A2; 163pb, 28pb); Em L observa-se o marcador de peso molecular (Ladder, 100pb) e em B o controle negativo (branco). A banda de 28pb por suas dimensões mínimas não aparece no gel. Fonte: o autor.

6 – RESULTADOS

O número amostral total foi composto de 270 indivíduos, sendo 135 não fumantes e 135 fumantes. No grupo controle a média de idade (\pm D.P.) foi de 60 (\pm 20) anos, com prevalência de cerca de 1,49 homens para cada mulher. Quanto ao grupo fumante a média de idade foi de 51 (\pm 21) anos, com prevalência de aproximadamente 1,75 homens para cada mulher.

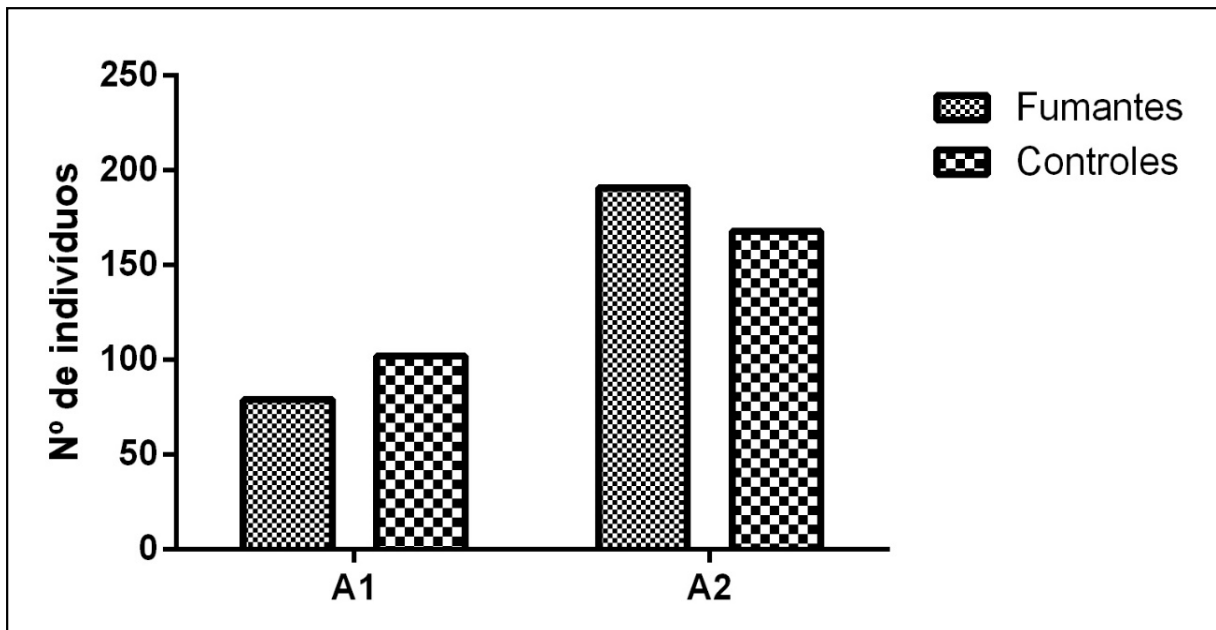
As características do comportamento tabágico na população fumante estudada encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6. Dados descritivos do comportamento tabagista.

Componente do comportamento	Variação		
	Frequente*	Ocasional**	
Frequência do hábito n (%)	123 (91,11%)	12 (8,89%)	
	<17 anos	≥17 anos	
Idade de Início n (%)	55 (40,74%)	80 (59,26%)	
	>20	≤20	
Consumo de cigarros/dia n (%)	20 (14,81%)	115 (85,19%)	
	Nunca	Tentaram	
Tentativas de abandono n (%)	47 (34,81%)	88 (65,19%)	
	<6 meses	≥ 6 meses	
Tempo de abstinência n (%)***	63 (71,59%)	25 (28,41%)	
	Grave	Moderada	Leve
Grau de dependência à nicotina n (%)	12 (8,89%)	23 (17,04%)	100 (74,07%)

*, Diário e semanal. **, Algumas vezes ao mês. ***, n=88.

Quanto à frequência genotípica da população foi possível observar a predominância do genótipo homozigoto selvagem A2A2 (123; 45,56%) em relação aos genótipos heterozigoto A1/A2 (113; 41,85%) e homozigoto mutante A1/A1 (34; 12,59%), além da predominância do alelo A2 (359; 66,48%) sobre o alelo A1 (181; 33,52%) (Figura 8).

Figura 8. Frequência alélica na amostra populacional.

Comparação entre o grupo de fumantes e o grupo controle. Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao estratificá-la em fumantes e não fumantes uma pequena diferença pode ser observada nas frequências genotípicas. Os fumantes apresentam uma prevalência do genótipo homozigoto selvagem A2/A2 (72; 53,33%), enquanto que nos controles prevaleceu o genótipo heterozigoto A1/A2 (64; 47,41%).

Quanto à frequência alélica, em ambos os grupos houve uma maior proporção do alelo A2. As Tabelas 7 e 8 contêm os dados das frequências genotípica e alélica e o resultado do teste do qui-quadrado para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Ambos os grupos se encontram em Equilíbrio.

Tabela 7. Frequência genotípica, alélica e teste do qui-quadrado (χ^2) no grupo controle para o polimorfismo no gene *DRD2*.

	Grupo controle N (%)	Estatísticas	
		χ^2	Valor do <i>p</i>
Genótipos			
A1/A1	18 (13,33%)		
A1/A2	66 (48,89%)		
A2/A2	51 (37,78%)	0,07	0,97
Total	135		
Alelos			
A1	102 (37,78%)		
A2	168 (62,22%)		

Tabela 8. Frequência genotípica, alélica e teste do qui-quadrado (χ^2) no grupo fumante para o polimorfismo no gene *DRD2*.

	Grupo fumante N (%)	Estatísticas	
		χ^2	Valor do p
Genótipos			
A1/A1	16 (11,85%)	1,89	0,39
A1/A2	47 (34,81%)		
A2/A2	72 (53,33%)		
Total	135		
Alelos			
A1	79 (29,26%)		
A2	191 (70,74%)		

Para melhor analisar os dados os genótipos foram classificados de acordo com presença ou ausência do alelo A1. Deste modo agruparam-se os indivíduos com genótipos A1/A1 e A1/A2 em A1+. Este agrupamento admite um modelo dominante da ação genética do alelo A1 e é compatível com os agrupamentos genotípicos da maioria dos estudos realizados com o polimorfismo Taq1A. Além disso o modelo dominante A1 é mais adequado para fins clínicos, em função da baixa frequência do genótipo A1A1 (WILCOX; NOBLE; OSKOOILAR, 2015; OHMOTO *et al.*, 2013; YUDKIN *et al.*, 2004).

Comparou-se então pelo teste do qui-quadrado a distribuição dos genótipos entre fumantes e controles, notando-se diferença estatisticamente significativa ($p = 0,01$). Esses dados e os resultados dos testes do Qui-quadrado e Odds Ratio encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9. Características genéticas da população para o polimorfismo no gene *DRD2*.

Genótipo/alelo	Fumantes N (%) [†]	Controles N (%) [†]	p^{**}	OR (95% IC) p
A1+	63 (46,67%)	84 (62,22%)	0,01	0,53 (0,33 – 0,86) 0,01
A2/A2	72 (53,33%)	51 (37,78%)		
A1	79 (29,26%)	102 (37,78%)	0,03	0,68 (0,47 – 0,98) 0,05
A2	191 (70,74%)	168 (62,22%)		

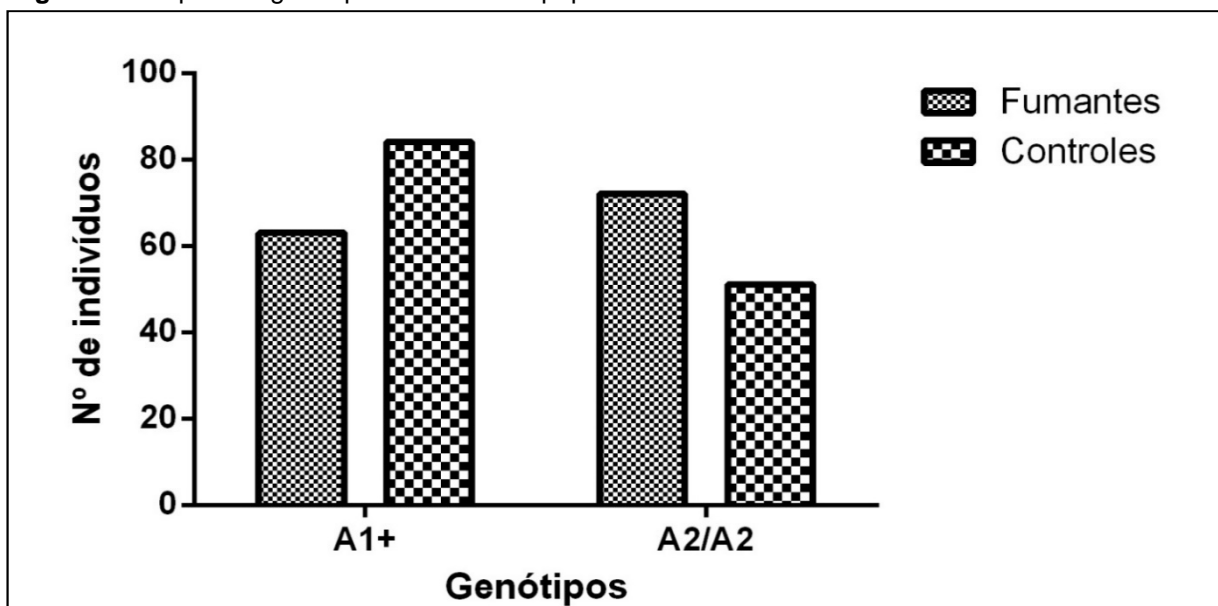
Testes: Qui-quadrado e *Odds Ratio* entre Fumantes e Controles. †, n = 135. **, Valor de p obtido pelo teste do qui-quadrado. OR, *Odds Ratio*. IC, intervalo de confiança

A aplicação de questionário à população estudada permitiu comparar as frequências genotípicas e alélicas com determinadas características do hábito tabágico, no entanto, nenhuma das comparações exibiu diferença estatisticamente significativa, os dados estão dispostos na Tabela 10, ver também figura 9.

Tabela 10. Análise das características relacionadas ao tabagismo para o polimorfismo do gene *DRD2*.

Genótipo	Característica		Valor de <i>p</i>	OR (95% IC) <i>p</i>
Frequência do Hábito				
	Frequente	Ocasional		
A1+	56	7	0,50	0,60 (0,18 – 1,98)
A2/A2	67	5		
Idade de Início				
	<17 anos	≥ 17 anos		
A1+	20	43	0,05	0,49 (2,44 – 0,99)
A2/A2	35	37		
Consumo de cigarros/dia				
	≤20	>20		
A1+	54	9	1,00	1,08 (0,42 – 2,80)
A2/A2	61	11		
Tentativas de abandono				
	Tentaram	Nunca		
A1+	46	17	0,10	1,93 (0,93 – 4,00)
A2/A2	42	30		
Tempo de abstinência (n = 88)				
	<6 meses	≥6 meses		
A1+	33	13	1,00	1,01 (0,40 – 2,56)
A2/A2	30	12		
Dependência à nicotina				
	Leve	Moderada-grave		
A1+	46	17	0,84	0,90 (0,42 – 1,95)
A2/A2	54	18		

*, Os valores de *p* foram obtidos mediante o teste exato de Fisher. A – Consumo diário e semanal. B – algumas vezes ao mês. OR – *odds ratio*. IC – intervalo de confiança.

Figura 9. Frequência genotípica da amostra populacional.

Comparação entre o grupo de fumantes e o grupo controle. Fonte: Elaborado pelo autor.

7 – DISCUSSÃO

Dado o grande impacto social do consumo de cigarros e o interesse mundial em seu combate, a comunidade científica tem buscado compreender a base celular e molecular do tabagismo (ROSEMBERG, 2003; ALDRIGHI *et al.*, 2005; CHATKIN, 2006; PINTO, 2007; MEIRELLES, 2009; RANG *et al.*, 2012). Dentre os vários aspectos do tema, são tocados pelos resultados deste estudo, a melhoria de abordagens para redução e abandono do tabagismo, a dependência à nicotina e o componente genético da dependência.

Ao ponto em que a presente pesquisa investigou características do hábito tabágico a fim de estudar sua associação com o Taq1A, fornece também o conhecimento de qualidades epidemiológicas. Essas qualidades, mesmo tomadas em separado do componente genético são importantes para a implementação de medidas eficazes de controle do tabagismo (MONTI, 2000; ERIKSEN *et al.*, 2015), motivo pelo qual também recebem destaque aqui.

O alelo A2 apresentou-se proporcionalmente mais frequente entre os fumantes que iniciaram o hábito mais cedo (abaixo de 17 anos), semelhantemente ao encontrado por Sieminska *et al.* (2009). Embora tal dado não tenha demonstrado significância estatística convém observar que na população estudada a idade precoce de início foi relativamente alta (40,74%).

Adolescentes portadores do alelo A1 apresentaram em outros estudos maior dependência a nicotina (LAUCHT *et al.*, 2008) e também aparecem como susceptíveis a altos níveis de estresse, que funcionam como um “gatilho” para o desejo de fumar (mais abordado posteriormente) (BONILHA *et al.*, 2014).

Tal dado é preocupante, pois sabe-se que adolescentes fumantes têm alta probabilidade de tornarem-se tabaco-dependentes em função da exposição precoce à nicotina (HORTA *et al.*, 2001; MALCON; MENEZES; CHATKIN, 2003; ROSEMBERG, 2003; MIGOTT, 2007; ABREU, 2011; MARQUEZAN *et al.*, 2011). Diante do combate mundial ao tabagismo, a prática entre adolescentes é um problema que persiste.

O número de adolescentes fumantes vem aumentando em países em desenvolvimento. Mais de 35% dos 1.283 estudantes com média de 16 anos numa

pesquisa recentemente realizada em Ribeirão Preto haviam experimentado cigarro; 12,1% do total foram classificados como fumantes regulares (BONILHA *et al.*, 2014).

A idade precoce de início do tabagismo envolve um maior tempo de exposição aos constituintes do cigarro, podendo amplificar seus efeitos nocivos. Além disso, o uso de cigarros entre adolescentes infelizmente guarda relação com outros comportamentos de risco, como a utilização de outras drogas (MENNIS *et al.*, 2016).

A frequência do consumo diário de cigarros no presente estudo foi alta, quase todos os fumantes fumam diariamente (93%). Esse achado é um reflexo do alto potencial da nicotina em causar dependência em humanos. O consumo diário entre os tabagistas é, em geral, maior que 85%, contra 10% de uso diário entre os dependentes de cocaína, por exemplo (BRASIL, 2010). Além disso, mesmo fumantes ocasionais, com o tempo, tornam-se nicotino-dependentes (PÉREZ-TRULLÉN *et al.*, 2001), num estudo com espanhóis, por exemplo, menos de 25% dos que tiveram contato com o tabaco não se tornaram fumantes regulares (HENNINGFIELD *et al.*, 2009).

O forte desejo de fumar, com um senso de urgência (*craving/fissura*) é o sintoma mais comumente relatado entre os nicotino-dependentes e o principal fator relatado motivador de recaídas naqueles que buscam a cessação. A fissura é moderada no início do tabagismo, de forma intermitente, um cigarro por semana é suficiente para inibi-la, mas a medida que a tolerancia se estabelece, o espaço de tempo entre um e outro momento de fissura diminui progresivamente e pode aparecer com o cheiro da fumaça de cigarro ou olhar uma propaganda num ponto de venda, sendo por isso também um fator que medeia a transição de tabagismo ocasional para frequente, além de dificultar a cessação quando do estabelecimento do tabagismo (HALONEN *et al.*, 2014; PEARCE *et al.*, 2015; KLEINJAN; ENGELS; DIFRANZA, 2015; MENNIS *et al.*, 2016). Segundo dados de Kleinjan, Engels e DiFranza (2015) o alelo A2 está relacionado com isso, entretanto, dados de Erblich *et al.* (2004), apontam o alelo A1.

Apesar de aproximar-se dos dados de Kleinjan, Engels e DiFranza (2015), o presente estudo não reforça nenhuma das linhas visto que embora não se tenha avaliado o *craving*, o Alelo A1 esteve em maioria entre os fumantes ocasionais e o A2 entre os frequentes, mas sem diferença significativa.

No que concerne a quantidade de cigarros, 85,19% dos participantes do presente estudo relataram consumir até 20 cigarros por dia. O alelo A2 esteve mais presente em todos os grupos, quando segregados os fumantes pela quantidade de cigarros consumida, sem exibir diferença estatisticamente significativa. Swan *et al.* (2005) haviam reportado uma média de 24,2 cigarros por dia para indivíduos com genótipo A1+ e 24,0 cigarros por dia para indivíduos A2/A2. No estudo de Sieminska *et al.* (2009), considerando uma faixa de 10 ou menos cigarros por dia e mais de 10 cigarros por dia o genótipo A2/A2 foi prevalente em ambas faixas.

Considerando apenas o aspecto epidemiológico, esse limiar de consumo é semelhante ao encontrado em outras regiões do Brasil. No Mato Grosso do Sul um estudo realizado em 2011 encontrou um consumo diário de até 20 cigarros em 89,3% dos fumantes pesquisados (FEITOSA; PONTES, 2011); Estudo realizado em Passo-Fundo – Rio Grande do Sul encontrou 93,6% dos fumantes com essa característica (MIGOTTI, 2007).

Embora não se tenha estabelecido associação com o polimorfismo estudado, a avaliação do limiar de consumo é uma característica importante do tabagismo relacionada à nicotino-dependência e ao aparecimento das doenças tabaco-relacionadas. Consumidores de 20 cigarros por dia geralmente já estão nicotino-dependentes, a quantificação do consumo diário é um fator decisivo para escolha de tratamento medicamentoso para cessação (ROSEMBERG, 2003).

A quantidade diária de uso do tabaco também está relacionada ao aumento das chances de aparecimento das doenças relacionadas com o hábito, como câncer de pulmão e mama. O consumo de menos de dez cigarros ao dia, por exemplo, já aumenta em seis vezes as chances de desenvolvimento de câncer de pulmão (ROSEMBERG, 2003; FEITOSA; PONTES, 2011).

A maioria dos fumantes participantes do presente estudo, 65,19%, afirmaram tentativas de abandono do hábito, destes 71,59% reincidiram no uso tabaco em menos de 6 meses. Embora tenha-se encontrado maior proporção do alelo A2 entre os que nunca tentaram parar de fumar e entre os que desistiram da cessação em menos de 6 meses, a diferença não alcançou significância estatística.

O alelo A1 foi previamente associado por outros pesquisadores a melhores resultados de cessação com tratamento de reposição de nicotina em relação a placebo (JOHNSTONE *et al.*, 2004), no entanto os resultados não puderam ser

replicados em outras populações (YUDKIN *et al.*, 2004; ATSOPOULOS *et al.*, 2007; MUNAFÒ *et al.*, 2009).

Por sua interferência com a fissura o alelo A2 foi recentemente associado com uma maior dificuldade de cessação. O estudo foi realizado com adolescentes holandeses (média de idade de 12,63 anos) (KLEINJAN; ENGELS; DIFRANZA, 2015). Estudo semelhante não parece ter sido realizado até o momento da conclusão do presente trabalho.

Blum *et al.* (2009) propuseram que a associação do Alelo A1 com maior dificuldade de cessação teria por base a resposta mais forte a agonistas da dopamina nesses indivíduos, em comparação com portadores do Alelo A2. Os autores propõem que haja uma "supersensibilidade no receptor", ocorreria uma ativação mais intensa após períodos de abstinência, algo também relacionado às sensações negativas nesse período. A experiência de sensações negativas na abstinência foi relacionada à densidade de receptores nicotínicos de acetilcolina, ao invés de receptores da dopamina, algo que não pode descartado frente a esse novo entendimento (RANG *et al.*, 2012).

Uma pesquisa feita com ingleses aponta a depressão como interferente na associação do Alelo A1 com a cessação. Fumantes em uso de terapia de reposição de nicotina para cessação portadores do alelo A1, quando considerada a presença de depressão, tiveram maior dificuldade de cessação em relação a não portadores. No entanto, quando a depressão não foi levada em conta na etapa estatística, a relação não pôde ser estabelecida (STAPLETON *et al.*, 2011).

A constatação do alto índice de tentativas de cessação e recaída na população pesquisada no presente trabalho concorda com a literatura científica no que concerne a dificuldade de cessação (JAIN, 2003; KHURANA *et al.*, 2003; CHATKIN, 2006).

A maior parte dos fumantes desiste da tentativa de fumar ainda nos primeiros dias (MUNAFÒ *et al.*, 2009). A maioria procura parar de fumar, entretanto apenas 5-15% mantém a abstinência num intervalo de um ano, mesmo com intervenções farmacológicas e psicológicas (ERBLICH *et al.*, 2004). A terapia de reposição de nicotina é o tratamento farmacológico mais utilizado em fumantes que desejam cessar o tabagismo, entretanto, tal abordagem apresenta resultados modestos ainda que em conjunto com apoio psicológico (STAPLETON *et al.*, 2011; WILCOX; NOBLE; OSKOOILAR, 2015).

A importância do estudo da qualidade cessação reside no fato de que ainda que a prevenção da iniciação, por moderar o número de fumantes, seja um caráter imprescindível para o combate ao tabagismo, a cessação tem a capacidade de diminuir o número de mortes estimadas (HENNINGFIELD *et al.*, 2009).

Quando os tabagistas foram segregados de acordo com seu status de dependência à nicotina não foi observada diferença estatisticamente significativa no que concerne ao caráter genético estudado, assim como em outros estudos (SWAN *et al.*, 2005; VERDE *et al.*, 2011).

A maior parte da população de tabagistas estudada possui dependência leve, o nível de dependência moderada somado ao nível grave alcançou 25,93%. Isso concorda com outros estudos que utilizaram o Teste de Fagerström para essa aferição, onde, geralmente, apenas 20% dos fumantes encontram-se em níveis mais elevados de dependência. O grau de dependência à nicotina interfere diretamente sobre a cessação e os danos à saúde, dificultando aquela e aumentando estes (ROSEMBERG, 2003; FRAGA *et al.*, 2005).

Os dados conflituosos disponíveis quanto à associação o Taq1A ao tabagismo pode ser explicada de diferentes maneiras. Atribui-se a não-replicação de resultados em estudos de associação principalmente à componentes ambientais que funcionariam como gatilhos para o tabagismo, à interação gene-gene e à composição da amostra no que concerne a gênero ou etnia.

Um gatilho bem estabelecido para o hábito tabágico é o fumo passivo em casa. Em estudo recente (KLEINJAN; ENGELS; DIFRANZA, 2015). essa variável aparece como moderadora da associação do Taq1A ao tabagismo. Adolescentes homocigotos para o alelo A2 expostos à fumaça de segunda-mão mostraram-se mais propensos a desenvolver o desejo de fumar em relação a adolescentes portadores do alelo A1 nas mesmas condições.

A fissura é o sintoma mais comum entre os nicotino-dependentes e o principal fator em recaídas naqueles que buscam cessar o hábito. A liberação de dopamina inibe-o. Em função disso, os achados de Kleinjan; Engels; DiFranza (2015) aparecem como uma boa proposta para análises posteriores nesse âmbito.

Estudo incluindo adolescentes, realizado na população piauiense, demonstrou que mais de 50% dos tabagistas dessa população possuem pelo menos mais um fumante em casa (MOURA *et al.*, 2011). Entretanto, não houve avaliação do fator genético, nem do desejo de fumar.

A média de idade da população do presente estudo e a utilização de parâmetros diferentes na investigação das características do hábito impedem uma comparação mais acertada com o estudo de Kleinjan, Engels e DiFranza (2015), no entanto os resultados dessa equipe podem lançar luz sobre os dados aqui expostos e suscitam uma perspectiva para estudos posteriores nessa população.

Outro *gatilho* que pode estar implicado na não-replicação de dados de associação do Taq1A ao tabagismo está relacionado ao estilo de vida dos fumantes ou fumantes em potencial: o estresse. A literatura relata que situações de estresse, como conflitos no trabalho, aumentam o número de cigarros fumados no dia (JONATHAN *et al.*, 2013).

O interesse em estudar a interferência do estresse no âmbito do fundo genético da nicotino-dependência veio da observação da influência que o mesmo exerce sobre a associação do Taq1A ao alcoolismo. A associação do alelo A1 com o alcoolismo aumenta sua força à medida em que se avaliam etilistas expostos a níveis maiores de estresse (MADRID *et al.*, 2001).

A exposição ao estresse mostrou influência semelhante no que concerne ao tabagismo. Exercendo influência sobre o desejo de fumar, como a fumaça de segunda mão, aumentando-o (ERBLICH *et al.*, 2004).

Poder-se ia supor uma interação sinérgica entre o estresse e o tabagismo passivo moderando a associação do Taq1A ao tabagismo, entretanto, não é o que ocorre observando os dados.

Admitindo como corretos os resultados dessas pesquisas, estabelece-se um conflito entre a exposição à fumaça de segunda mão em casa, associada ao aumento de desejo entre os portadores do alelo A2, e o estresse, associado ao aumento do desejo em portadores do alelo A1. O que, na prática, não parece lógico (ERBLICH *et al.*, 2004; KLEINJAN; ENGELS; DIFRANZA, 2015).

No que concerne ao estresse, existe consenso de que é necessário investigar em conjunto outros condicionantes, dada a complexidade da soma de fatores que implicam no aparecimento do mesmo (ERBLICH *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2016). Ademais, outras possibilidades citadas mais à frente, podem conciliar tais dados.

Entre os *gatilhos* destacam-se ainda a depressão e a hiperatividade. Em uma população com transtorno do Déficit de Atenção/Hiperatividade o genótipo

A2/A2 apareceu relacionado com risco até duas vezes maior de desenvolvimento de tabagismo em relação à portadores do Alelo A1 (BIDWELL *et al.*, 2012).

Embora seja um dado interessante e que mereça atenção, justificar o conflito de resultados atribuindo a interferência do Taq1A ao transtorno do Déficit de Atenção/Hiperatividade restringira muito o aspecto de influência do polimorfismo, o que não condiz com as várias associações já encontradas em diferentes pesquisas. A interferência da depressão, por outro lado, deve ser vista com ainda mais cautela.

Mesmo que citada como interferente na associação Taq1A-tabagismo, a relação entre o tabagismo em si e a depressão permanece motivo de debate. Há estudos que sugerem que pessoas com depressão são mais propensas a fumar e outros apontam que o tabagismo aumenta o risco de depressão. A taxa de depressão entre fumantes chega a ser o dobro da média da população em geral (JAMAL *et al.*, 2012; PICCIOTO; MINEUR, 2014), o que deixa a questão em aberto até que se possa realmente atribuir o conflito dos resultados ou parte dele a esse fator.

Dada a complexidade do comportamento tabágico, quando há possibilidade, a análise da associação de diferentes polimorfismos em diferentes genes apresenta resultados melhores que a abordagem de um único polimorfismo. Um estudo de Sieminska *et al.* (2009) demonstrou que a associação do polimorfismo Taq1A com o tabagismo pode ser alterada por interação gene-gene com alelos do gene *SLC6A3*.

Portadores do alelo A2 do Taq1A que não possuem o alelo de 9 repetições do *SLC6A3* tem maior probabilidade de se tornarem tabagistas quando comparados a portadores do alelo A1 sem o alelo de 9 repetições do *SLC6A3* (SIEMINSKA *et al.*, 2009).

É interessante notar que na população tabagista piauiense a prevalência do alelo de 9 repetições é baixa (RAMOS NETO, 2013). Admitindo os dados de Sieminska *et al.* (2009) de interação gene-gene não há dificuldades em relação aos dados apresentados no presente estudo, que demonstram associação do alelo A1 ao comportamento dos não-fumantes; embora, havendo fomento para a pesquisa, a investigação de ambos os genes em um mesmo estudo seja importante para esclarecer ainda mais a questão.

A comunidade científica, conforme supramencionado, também investigou a importância das variáveis gênero e etnia para o esclarecimento da associação do Taq1A à tabaco-dependência. Os primeiros estudos fizeram supor-se que a

divergência dos resultados em estudo de associação poderia se dar em função da relação homem/mulher na composição da amostra. Entretanto, a evidência acumulada até o momento, exposta numa revisão sistemática (OHMOTO *et al.*, 2013) demonstra que a divergência não se dá por esse aspecto, embora os condicionantes ambientais para a iniciação do tabagismo sejam diferentes entre homens e mulheres (OHMOTO *et al.*, 2013; MUNAFÒ *et al.*, 2009). Os mesmos pesquisadores, indicam, por outro lado as variações étnicas como explicação para o conflito.

A depender da etnia, os alelos do Taq1A exercem influência maior ou menor na iniciação, persistência, cessação e taxa de consumo de cigarros (OHMOTO *et al.*, 2013). A constituição genética do Estado possui uma expressiva contribuição européia (60%), seguida da africana (21,5%) e indígena (18,5%) (LOPES *et al.* 2013). A amostra apresentou frequências alélicas e genótípicas abaixo do encontrado na população Européia, mas ligeiramente superiores aos encontrados na população Africana. Um conjunto de dados de estudos de associação do Taq1A com o tabagismo é apresentado na tabela a seguir.

Tabela 11. Prevalência do polimorfismo Taq1A em diferentes populações

Estudo	Continente	Tipo de estudo	Frequência Genotípica nos Fumantes		Frequência Genotípica nos controles		Valor de P
			A1+	A2/A2	A1+	A2/A2	
Lerman <i>et al.</i> (1999)	Europa	Caso Controle	88	149	68	139	0,350
Wu <i>et al.</i> (2000)	América	Caso Controle	26	17	75	32	<0,05
Yoshida <i>et al.</i> (2001)	Ásia	Caso Controle	38	39	158	97	0,001
Lee (2003)	Ásia	Caso Controle	65	29	63	30	0,820
Johnstone <i>et al.</i> (2004)	Europa	Caso Controle	262	470	98	145	0,500
Erblich <i>et al.</i> (2005)	América	Caso Controle	49	39	59	117	<0,05
Verde <i>et al.</i> (2011)	Europa	Caso Controle	85	42	88	14	<0,05
Presente estudo	América do Sul	Caso controle	63	72	84	51	0,010

Diante do exposto, a interação gene-gene e a variação étnica parecem ser, em consonância com os dados que se dispõe até o momento, um pano de fundo provável para os resultados aqui demonstrados e os demais encontrados na literatura.

É interessante notar, entretanto, que está estabelecido na literatura a natureza inibitória da função do receptor D2, regulando o efeito da dopamina (GOLAN *et al.*, 2014).

Tal informação não costuma versar entre as fornecidas na maioria dos artigos que buscam relacionar o polimorfismo ao tabagismo (WU *et al.*, 2000; YOSHIDA *et al.*, 2001; LEE, 2003; JOHNSTONE *et al.*, 2004; ERBLICH *et al.*, 2005; VERDE *et al.*, 2011). Ao levar em consideração a natureza inibitória do receptor, o raciocínio por trás de sua associação ao tabagismo deve ser atualizado.

A diminuição da densidade dos receptores *DRD2* no cérebro e, conseqüentemente sua interferência na neurotransmissão dopaminérgica permanecem a hipótese mais aceita de mecanismo biológico pelo qual o *Taq1A* pode ser associado ao tabagismo (POHJALAINEN *et al.*, 1998; JONSSON *et al.*, 1999; RICHTER *et al.*, 2014; OMIM, 2015). Entretanto, aceitando que uma maior disponibilidade de dopamina é um fator de proteção para o tabagismo (LERMAN *et al.*, 1999; SABOL *et al.*, 1999), a diminuição da densidade do receptor conferiria, diferentemente do que defendem muitos autores, proteção contra as fármaco-dependências a exemplo da nicotino-dependência. Os dados aqui apresentados corroboram com esse pensamento.

Sendo a principal forma de ação do receptor D2 inibitória, sugere-se que a hipótese supramencionada deva também ser levada em consideração em estudos posteriores.

8 – CONCLUSÃO

A população tabagista esteve caracterizada por uso frequente do cigarro, idade de início do hábito superior a 17 anos, consumo de cigarro inferior a 20 cigarros/dia e predominância de tentativas de cessação com abstinência menor que 6 meses. O teste de dependência a nicotina revelou também uma predominância de dependência leve entre o grupo de fumantes estudado. Os resultados da pesquisa apontam para uma associação do Alelo A1 (T) do polimorfismo Taq1A e o comportamento dos não-fumantes na amostra populacional estudada.

As frequências genótípicas e alélicas, observada a característica de miscigenação, foram condizentes com outros estudos populacionais.

Perspectivas futuras incluem a realização de estudos adicionais com o Taq1A lançando mão de aumento do número amostral, havendo possibilidade; melhoramento do questionário com inclusão de outros testes além do de Fagerström, e avaliação da prevalência de outros polimorfismos que possam interferir na associação, a exemplo do 3' UTR do gene *SLC6A3*.

Apesar da limitação imposta pelo número amostral e das controvérsias da literatura científica, este estudo é de grande utilidade para pesquisas posteriores no que concerne ao fundo genético do tabagismo e contribui também para o conhecimento de aspectos inerentes ao perfil do fumante piauiense, o que pode cooperar para abordagens mais específicas no âmbito do combate ao problema do tabagismo nesse estado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M.N.S. **Prevalência e fatores associados ao tabagismo entre adolescentes e adultos jovens**. Tese (Doutorado em Saúde Pública, área de concentração em Epidemiologia) Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. Belo Horizonte. 2011.
- AHRENS, S. *et al.* Modulation of nicotine effects on selective attention by DDR2 and CHRNA4 gene polymorphisms. **Psychopharmacology (Berl)**. 2015.
- ALABURDA, J.; NISHIHARA, L. Presença de compostos de nitrogênio em águas de poços. **Rev. Saúde Pública** [online]. 1998.
- ALASMARIA, F. *et al.* Targeting glutamate homeostasis for potential treatment of nicotine dependence. **Brain Research Bulletin**. 2016.
- ALDRIGHI, J. M. *et al.* Tabagismo e antecipação da idade da menopausa. **Rev. Assoc. Med. Bras.** São Paulo. 2005.
- AMAZONAS. Governo do Estado do Amazonas. Secretaria de Estado de Segurança Pública. Programa de Redução da violência, do uso de narcóticos e entorpecentes – PREVINE. **Tabagismo**. Série: Drogas! Conhecer para prevenir. Amazonas. 2007.
- ANANTHARAMAN, D. *et al.* Polymorphisms in tobacco metabolism and DNA repair genes modulate oral precancer and cancer risk. **Oral Oncol**. 2011.
- ASHARE, R. L.; SCHMIDT, H.D. Optimizing treatments for nicotine dependence by increasing cognitive performance during withdrawal. **Expert Opin Drug Discov**. 2014.
- ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL (AFUBRA). **Fumicultura mundial: situação mundial**. AFUBRA. 2015a. Disponível em <<http://www.afubra.com.br/fumicultura-mundial>> Acesso em 20 dez. 2015.
- _____. **Fumicultura no Brasil: faturamento**. AFUBRA. 2015b. Disponível em <<http://www.afubra.com.br/fumicultura-brasil>> Acesso em 20 dez. 2015.
- _____. **Fumicultura no Brasil: Empregos setor fumageiro Safra 2014/15**. AFUBRA. 2015c. Disponível em <<http://www.afubra.com.br/fumicultura-brasil>> Acesso em 20 dez. 2015.
- ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA (AMB). Comissão de Combate ao Tabagismo da AMB. **Diretriz para tratamento do Tabagismo**. 2009. Disponível em <http://actbr.org.br/uploads/conteudo/341_Diretriz_Tabagismo.pdf> Acesso em 20 dez. 2015.
- AYRES, M. *et al.* **BioEstat 5.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas**. Sociedade Civil de Mamirauá. Belém. 2007.
- AZEVEDO, R. C. S. *et al.* Grupo terapêutico para tabagistas: resultados após seguimento de dois anos. **Rev. Assoc. Med. Bras.** São Paulo. 2009.

- BALBANI, A. P. S.; MONTOVANI, J. C. Métodos para abandono do tabagismo e tratamento da dependência da nicotina. **Rev Bras Otorrinolaringol** [online]. 2005.
- BATRA, A. *et al.* The dopamine D2 receptor (DRD2) gene-a genetic risk factor in heavy smoking? **Addiction Biology**, 2000.
- BATRA, V. *et al.* The Genetic Determinants of Smoking. **Chest**. 2003.
- BENOWITZ, N.L.; HUKKANEN, J.; JACOB, P. Nicotine Chemistry, Metabolism, Kinetics and Biomarkers. **Handb Exp Pharmacol**. 2009.
- BERGEN, A. W. *et al.* Dopamine Genes and Nicotine Dependence in Treatment-Seeking and Community Smokers. **Neuropsychopharmacology**. 2009.
- BERRETTINI, W. H.; LERMAN, C. E. Pharmacotherapy and Pharmacogenetics of Nicotine Dependence. **Am J Psychiatry**. 162:1441–1451. 2005.
- BIDWELL, C.L. *et al.* A Preliminary Analysis of Interactions Between Genotype, Retrospective ADHD Symptoms, and Initial Reactions to Smoking in a Sample of Young Adults. **Nicotine Tob Res**. 2012.
- BISELLI, J. M.; *et al.* Polimorfismos GSTT1 e GSTM1 em indivíduos tabagistas com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço. **Rev Bras Otorrinolaringol**. 2006.
- BLUM, K. Allelic association of human dopamine D(2) receptor gene in alcoholism. **JAMA**. 1990.
- BLUM, K. *et al.* Neurogenetics of Dopaminergic Receptor Super-sensitivity in Activation of Brain Reward Circuitry and Relapse: Proposing. “Deprivation-Amplification Relapse Therapy” (DART). **Postgrad Med**. 2009.
- BOCCIA, S. *et al.* Polymorphisms in metabolic genes, their combination and interaction with tobacco smoke and alcohol consumption and risk of gastric cancer: a case-control study in an Italian population. **BMC Cancer**. 2007.
- BOEIRA, S. L.; JOHNS, P. Indústria de Tabaco vs. Organização Mundial de Saúde: um confronto histórico entre redes sociais de stakeholders. **Revista Internacional Interdisciplinar Interthesis**. Florianópolis. 2007.
- BONILHA, A. G. *et al.* Correlatos de experimentação e consumo atual de cigarros entre adolescentes. **J. bras. pneumol.**, São Paulo. 2014.
- BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução Nº 466 de 12 de dezembro de 2012**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 13 de junho de 2013. Disponível em <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>>

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. **Vigitel Brasil 2014: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília. Ministério da Saúde. 2015. Disponível em <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/maio/28/apresentacao-tabaco.pdf>> Acesso em 20 dez. 2015.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. **Vigitel Brasil 2009 : vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília : Ministério da Saúde, 2010.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. **Vigitel Brasil 2010: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília. Ministério da Saúde. 2011.

_____. Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas. **Drogas: Cartilha sobre tabaco**. Distrito Federal. 2010. Disponível em <<http://www.brasil.gov.br/enfrentandoocrack/publicacoes/material-informativo/serie-por-dentro-do-assunto/drogas-cartilha-sobre-tabaco>> Acesso em 20 dez. 2015.

BRESLAU, N.; JOHNSON, E.O. Predicting smoking cessation and major depression in nicotine-dependent smokers. **Am J Public Health**. 2000.

BRITTO, A. V. Câncer de estômago: fatores de risco. **Cad. Saúde Pública** [online]. 1997.

BRUTON; L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN., B.C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12 ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

CANTRELL, J.L.. *et al.* Tobacco retail outlet density and young adult tobacco initiation. **Nicotine Tob. Res**. 2015.

CARMO, J. T. do; PUEYO, A.A. A adaptação ao português do Fagerström Test for Nicotine Dependence (FTND) para avaliar a dependência e tolerância à nicotina em fumantes brasileiros. **RBM rev. bras. Med**. 2002.

CARVALHO, A. A.; GOMES, L.; TAVARES, A. B. Tabagismo em idosos: em instituições brasileiras de longa permanência. **Acta Med Port**. 2010.

CHAIEB, J.A.; CASTELLARIN, C. Associação tabagismo-alcoolismo: introdução às grandes dependências humanas. **Rev. Saúde Pública**. 1998.

CHATKIN, J. M. A influência da genética na dependência tabágica e o papel da farmacogenética no tratamento do tabagismo. **J Bras Pneumol**. 2006.

CICHOŹ-LACH, H. *et al.* Genetic polymorphism of alcohol-metabolizing enzyme and alcohol dependence in Polish men. **Braz J Med Biol Res**. 2010.

COLIZZI, M. *et al.* Interaction Between Functional Genetic Variation of DRD2 and Cannabis Use on Risk of Psychosis. **Schizophr Bull.** 2015.

COLOMBO, A.C. **Papel dos receptores dopaminérgicos D1 e D2 do colículo inferior na expressão de respostas incondicionadas e condicionadas de medo.** Dissertação (Mestrado em Ciências: Psicobiologia). Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2014.

COMINGS, D.E. *et al.* The dopamine D2 receptor (DRD2) gene: A genetic risk factor in smoking. **Pharmacogenetics**, 1996.

COMINGS, D.E.; BLUM, K. Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders. **Prog. Brain Res.** 2000.

CORRÊA, P.C.R.P. Tabagismo, hipertensão e diabetes - reflexões. **Revista Brasileira de Clínica & Terapêutica.** 2003.

CORRÊA, P. C. R. P.; BARRETO, S.M.; PASSOS, V. M. A. Métodos de estimativa da mortalidade atribuível ao tabagismo: uma revisão da literatura. **Epidemiol. Serv. Saúde.** Brasília. 2008.

COX, L. S. *et al.* Nicotine Dependence Treatment for Patients with Cancer. **Cancer.** 2003.

DATABASE OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS (dbSNP). Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine. dbSNP accession: rs=1800497, (dbSNP Build ID:147). Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1800497> Acesso em 22 dez. 2015.

DESCRITORES EM CIÊNCIAS DA SAÚDE (DECS). Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde. Biblioteca Regional de Medicina (BIREME). Organização Pan-Americana da Saúde / Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS). Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). **Polimorfismo genético.** Número de registro: 11547. Identificador único: D011110. 2015. Disponível em <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IscScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&task=exact_term&previous_page=homepage&interface_language=p&search_language=p&search_exp=Polimorfismo%20Gen%20E9tico> Acesso em 21 dez. 2015.

DELIS, F. *et al.* Regulation of ethanol intake under chronic mild stress: roles of dopamine receptors and transporters. **Front Behav Neurosci.** 2015.

DOTTO BAU, C. H.. Estado atual e perspectivas da genética e epidemiologia do alcoolismo. **Ciências & Saúde Coletiva.** 2002.

ECKERDT, N. S.; CORRADI-WEBSTER, C. M. Sentidos sobre o hábito de fumar para mulheres participantes de grupo de tabagistas. **Rev. Latino-Am. Enfermagem.** Ribeirão Preto. 2010.

ERBLICH, J., *et al.* Stress-induced cigarette craving: effects of the DRD2 TaqI RFLP and SLC6A3 VNTR polymorphisms. **The Pharmacogenomics Journal**. 2004.

ERBLICH, J. *et al.* Effects of dopamine D2 receptor (DRD2) and transporter (SLC6A3) polymorphisms on smoking cue-induced cigarette craving among African-American smokers. **Molecular Psychiatry**. 2005.

ERIKSEN, M.P. *et al.* **The tobacco atlas**. 5 ed. American Cancer Society, 2015. Disponível em < http://3pk43x313ggr4cy0lh3tctjh.wpengine.netdna-cdn.com/wp-content/uploads/2015/03/TA5_2015_WEB.pdf > Acesso em 20 dez. 2015.

FABRIS, D.B. **Prevalência e fatores risco para tabagismo em adolescentes de Criciúma - SC**. Monografia (Graduação em Medicina) Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC. Criciúma. 2008.

FAGERSTRÖM, K.O.. *et al.* The Fagerström Test for Nicotine Dependence as a Predictor of Smoking Abstinence: A Pooled Analysis of Varenicline Clinical Trial Data. **Nicotine Tob Res**. 2012.

FAGERSTRÖM, K.O. Measuring degree of physical dependence to tobacco smoking with reference to individualization of treatment. **Addict Behav**. 1978.

FEITOSA, R. C. L.; PONTES, E. R. J. C. Levantamento dos hábitos de vida e fatores associados à ocorrência de câncer de tabagistas do município de Sidrolândia (MS, Brasil). **Ciênc. saúde coletiva**. Rio de Janeiro. 2011.

FERREIRA, P. L. *et al.* Teste de dependência à nicotina: validação linguística e psicométrica do teste de Fagerström. **Rev. Port. Sau. Pub**. Lisboa. 2009.

FRAGA, S.; *et al.* Tabagismo em Portugal. **Arquivos de Medicina**. Lisboa. 2005.

FURTADO, R. D. Implicações Anestésicas do Tabagismo. **Rev Bras Anesthesiol**. 2002.

GARCIA, S. M. N.; *et al.* Genetics Polymorphisms in Alcohol Metabolizing Genes and the Risk of Head and Neck Cancer in a Brazilian Population. **Alcohol & Alcoholism**. 2010.

GELERNTER, J., *et al.* Haplotype spanning TTC12 and ANKK1, flanked by the DRD2 and NCAM1 loci, is strongly associated to nicotine dependence in two distinct American populations. **Human Molecular Genetics** 2006.

GILPIN, E.A.; CAVIN, S.W.; PIERCE, J. Adult smokers who do not smoke daily. **Addiction**. 1997.

GOLAN, D. E. *et al.* **Princípios de Farmacologia - A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia**. 3ª ed. 2014. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil.

GONIEWICZ, M. L. *et al.* Comparison of Urine Cotinine and the Tobacco-Specific Nitrosamine Metabolite 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-Pyridyl)-1-Butanol (NNAL) and Their Ratio to Discriminate Active From Passive Smoking. **Nicotine & Tobacco Research**. 2011.

GRAY, N.; BOYLE, P. Tobacco industry must not dump its high nitrosamine tobacco on poor countries. **BMJ**. 2001.

GUINDON, G. E.; BOISCLAIR, D. **Past, current and future trends in tobacco use.** The International Bank for Reconstruction and development / The World Bank. Washington. 2003. Disponível em <
<https://web.archive.org/web/20090318003729/http://www1.worldbank.org/tobacco/pdf/Guindon-Past,%20current-%20whole.pdf>> Acesso em 20 dez. 2015.

HALLIKAINEN, T. Ethanol consumption and DRD2 gene TaqI A polymorphism among socially drinking males. **Am. J. Med. Genet**. 2003.

HAMAJIMA, N. *et al.* Association between Smoking Habits and Dopamine Receptor D2 TaqI A A2 Allele in Japanese Males:a Confirmatory Study. **Journal of Epidemiology**. 2002.

HAMDANI, N.; ADES, J.; GORWOOD, P. Héritabilité et gènes candidats dans le tabagisme. **L'Encéphale**, 2006.

HEATHERTON, T.F. *et al.* The Fagerström Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. **Br J Addict**. 1991.

HECHT, S. S. *et al.* Tobacco-Specific Nitrosamine Adducts: Studies in Laboratory Animals and Humans. **Environmental Health Perspectives**. 1993.

HECHT, S.S.; HOFFMANN, D. Tobacco-specific nitrosamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke. **Carcinogenesis**. 1988.

HENNINGFIELD, J. E. *et al.* Tobacco dependence and withdrawal: Science base, challenges and opportunities for pharmacotherapy. **Pharmacol Ther**. 2009.

HENRIKSEN, L. *et al.* A longitudinal study of exposure to retail cigarette advertising and smoking initiation. **Pediatrics**, 2010.

HILDESHEIM, A. *et al.* CYP2E1 Genetic Polymorphisms and Risk of Nasopharyngeal Carcinoma in Taiwan. **Journal of the National Cancer Institute**. 1997.

HOENICKA, J. *et al.* The ANKK1 Gene Associated with Addictions Is Expressed in Astroglial Cells and Upregulated by Apomorphine. **Biological Psychiatry**. 2010.

HORIMOTO, A. *et al.* Genetic analyses of smoking initiation, persistence, quantity, and age-at-onset of regular cigarette use in Brazilian families: the Baependi Heart Study. **BMC Medical Genetics**. 2012.

HORTA, B. L. *et al.* Tabagismo em adolescentes de área urbana na região Sul do Brasil. **Rev Saúde Pública**, 2001.

HUANG, W.H. *et al.* Significant Association of ANKK1 and Detection of a Functional Polymorphism with Nicotine Dependence in an African - American Sample. **Neuropsychopharmacology**. 2009.

HUKKANEN, J. *et al.* Effects of nicotine on cytochrome P450 2A6 and 2E1 activities. **Br J Clin Pharmacol**. Feb. 2010.

HURT, R.D. *et al.* Treating Tobacco Dependence in a Medical Setting. **CA Cancer J Clin**. 2009.

IARMARCOVAI, G. *et al.* Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature. **Mutation Research**. 2008.

INCA. **Comunicação e Informação. Jovens dos países mais pobres são mais vulneráveis ao tabaco**. 2015. Disponível em <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2015/jovens_dos_paises_mais_pobres_sao_mais_vulneraveis_ao_tabaco> Acesso em 20 dez. 2015.

INGELMAN-SUNDBERG, M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.** 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo demográfico 2010**. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/tabelas_pdf/Brasil_tab_1_14.pdf> Acesso em 20 dez. 2015.

_____. **Pesquisa Nacional de Saúde 2013**. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em <<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv91110.pdf>> Acesso em 20 dez. 2015

_____. **Pesquisa nacional por amostra de domicílios, 2008**. Rio de Janeiro. 2009. Disponível em: <<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS%20-%20RJ/panorama.pdf>> Acesso em 20 dez. 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Tabagismo, Perguntas e respostas**. INCA, 2015b. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/nobrasil/programa-nacional-controle-tabagismo/tratamento-do-tabagismo/perguntas-e-respostas> Acesso em 20 dez. 2015

_____. **Observatório da Política Nacional de Controle do Tabaco: Prevalência de tabagismo**. INCA, 2015a. Disponível em <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/observatorio_controle_tabaco/site/home/dados_numeros/prevalencia-de-tabagismo> Acesso em 20 dez. 2015.

IOANNIDIS, J.P. *et al.* Replication validity of genetic association studies. **Nature Genetics**. 2001.

JAIN, A. Treating nicotine addiction. **BMJ**. 2003.

JAMAL, *et al.* Association of smoking and nicotine dependence with severity and course of symptoms in patients with depressive or anxiety disorder. **Drug and Alcohol Dependence**. 2012.

JOHNSTONE, E.C. *et al.* Genetic variation in dopaminergic pathways and short-term effectiveness of the nicotine patch. **Pharmacogenetics** 2004.

JONATHAN, T. M. Association Between Work–Family Conflict and Smoking Quantity Among Daily Smokers. **Nicotine Tob Res**. 2013.

JONSSON, E.G. Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. **Molec. Psychiat**. 1999.

JULL, B.A.; PLUMMER, H.K.; SCHULLER, H.M. Nicotinic receptor-mediated activation by the tobacco-specific nitrosamine NNK of a Raf-1/MAP kinase pathway, resulting in phosphorylation of c-myc in human small cell lung carcinoma cells and pulmonary neuroendocrine cells. **J Cancer Res Clin Oncol**. 2001.

KATO, K.; SHOJI, T.; HASHIMOTO, T.. Tobacco Nicotine Uptake Permease Regulates the Expression of a Key Transcription Factor Gene in the Nicotine Biosynthesis Pathway. **Plant Physiol**. 2014.

KEENEY, A. H.; WADDELL, W. J.; PERRAUT, T.C. Carcinogenesis and nicotine in malignant melanoma of the choroid. **TR. AM. OPHTH. Soc**. 1982.

KHURANA, S.; BATRA, V.; PATKAR, A.A. Twenty-first century tobacco use: It is not just a risk factor anymore. **Respir Med**. 2003.

KLEINJAN, M.; ENGELS, R.C.; DIFRANZA, J.R. Parental smoke exposure and the development of nicotine craving in adolescent novice smokers: the roles of DRD2, DRD4, and OPRM1 genotypes. **BMC Pulm Med**. 2015.

KOLLINS, S. H.; ADCOCK, R. A. ADHD. Altered dopamine neurotransmission, and disrupted reinforcement processes: Implications for smoking and nicotine dependence. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**. 2014.

KOOP, D.R. Oxidative and reductive metabolism by cytochrome P450 2E1. **The FASEB Journal**. 1992.

KORESSAAR, T.; REMM, M. Enhancements and modifications of primer design program Primer3. **Bioinformatics**. 2007.

KRISHNEGOWDA, G.; *et al.* Facile Syntheses of O2-[4-(3-Pyridyl-4-oxobut-1-yl)]thymidine, the Major Adduct Formed by Tobacco Specific Nitrosamine 4-Methylnitrosamino-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in vivo, and its Site-specifically Adducted Oligodeoxynucleotides. **Chem Res Toxicol**. 2011.

KURI-MORALES, P. A. *et al.* Epidemiología del tabaquismo en México. **Salud pública Méx.** v.48 suppl.1. Cuernavaca. 2006.

LAO, Y.; *et al.* Analysis of Pyridyloxobutyl DNA Adducts in F344 Rats Chronically Treated with (R)- and (S)- N'-Nitrosonornicotine. **Chem Res Toxicol**. 2007.

LARUELLE, M., GELERNTER, J.; INNIS, R. B. D2 receptors binding potential is not affected by Taq1 polymorphism at the D2 receptor gene. **Mol. Psychiatry** 1998.

LAUCHT, M. *et al.* Genetic variation in dopamine pathways differentially associated with smoking progression in adolescence. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**, 2008.

LAVEDAN *et al.* **Antipsychotic treatment based on DRD2 or ANKK1 SNP genotype**. United States Patent. 2015.

LEE, H. S. **Gender-specific molecular heterosis and association studies: Dopamine D2 receptor gene and smoking**. American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics. 2003.

LERMAN, C.; *et al.* Tryptophan hydroxylase gene variant and smoking behavior. **Am J Med Genet**. 2001.

LERMAN, C; *et al.* Evidence suggesting the role of specific genetic factors in cigarette smoking. **Health Psychol**. 1999.

LI, X. *et al.* Involvement of glutamatergic and GABAergic systems in nicotine dependence: Implications for novel pharmacotherapies for smoking cessation. **Neuropharmacology**. 2014.

LIMA, P.A.S.P. **O Polimorfismo T102C do receptor serotoninérgico 5-HT2A Participa na manutenção do tabagismo e dos mecanismos de preferência alimentar**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2004.

LINDGREN, N. *et al.* Distinct roles of dopamine D2L and D2S receptor isoforms in the regulation of protein phosphorylation at presynaptic and postsynaptic sites. **Proc Natl Acad Sci USA**. 2003 Apr 1;100(7):4305-9.

LIPPERMAN-KREDA, S. *et al.* Density and proximity of tobacco outlets to homes and schools: relations with youth cigarette smoking. **Prev. Sci**. 2014.

LOPES, T.R. Análise do perfil genético da população do estado do Piauí por marcadores informativos de ancestralidade. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). **Universidade Federal do Piauí**. Parnaíba. 2013.

LUCHT, M., ROSSKOPF, D. Comment on 'Genetically determined differences in learning from errors.' **Science**. 2008.

MA, Y. *et al.* Updated findings of the association and functional studies of DRD2/ANKK1 variants with addictions. **Mol Neurobiol**. 2015.

MACHADO, A.; NICOLAU, R.; DIAS, C. M. Consumo de tabaco na população portuguesa retratado pelo Inquérito Nacional de Saúde (2005/2006). **Rev Port Pneumol**. Lisboa. 2009.

MACKAY, J. L.; ERIKSEN, M.; ROSS, H. **El Atlas del tabaco**. 4ª Ed. Atlanta, 2012.

MADRID, G.A. *et al.* Stress as a mediating factor in the association between the DRD2 TaqI polymorphism and alcoholism. **Alcohol**. 2001.

MALCON, M.C.; MENEZES, A.M.B.; CHATKIN, M. Prevalência e fatores de risco para tabagismo em adolescentes. **Rev Saúde Pública**. 2003.

MARIE, N.G. *et al.* Smoking Prevalence and Cigarette Consumption in 187 Countries, 1980-2012. **JAMA**. 2014.

MARQUEZAN, R. *et al.* Tabagismo e fumo passivo: Prevalência na clientela da ESF Vila Maringá da Cidade Santa Maria - RS. **Revista Conhecimento Online**. 2011.

MEIRELLES, R. H. S. Tabagismo e DPOC - dependência e doença - fato consumado. **Pulmão RJ - Atualizações temáticas**. 2009.

MENNIS, J. *et al.* The role of tobacco outlet density in a smoking cessation intervention for urban youth. **Health & Place**. 2016.

MIGOTT, A.M.B. **Um estudo do polimorfismo 5HT2A como elo entre tabagismo e depressão**. Tese (Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto alegre. 2007.

MIWA, J. M.; FREEDMAN, R.; LESTER H.A. Neural Systems Governed by Nicotinic Acetylcholine Receptors: Emerging Hypotheses. **Neuron**. 2011.

MONTI, J.F.C. Perfil epidemiológico, clínico e evolutivo da tuberculose na Região de Bauru - SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 2000.

MORILLO, M. G.; AMATO, M.C.M; FILHA, S.P.C. Registro de 24 Horas da Pressão Arterial em Tabagistas e Não-Tabagistas. **Arq Bras Cardiol**. 2006.

MOSKOWITZ, J.M. *et al.* Online smoking cessation program for Korean Americans: Randomized trial to test effects of incentives for program completion and interim surveys; **Preventive Medicine**. 2016.

MOTTA, P.A. **Genética humana: aplicada a psicologia e toda a área biomédica**. 2ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2009.

MOURA, A.C.M. *et al.* Perfil epidemiológico de uma população tabagista do estado do Piauí. In: Seminário de Iniciação Científica, XX, 2011, Teresina. **Anais do XX Seminário de Iniciação Científica**. Universidade Federal do Piauí, 2011. Disponível em

<<http://leg.ufpi.br/20sic/Documentos/RESUMOS/Modalidade/Vida/e702e51da2c0f5be4dd354bb3e295d37.pdf>> Acesso em 20 dez. 2015.

MUMTAZ, J. *et al.* Age at Smoking Onset and the Onset of Depression and Anxiety Disorders. **Nicotine Tob Res.** 2011.

MUNAFÒ M.R. *et al.* Bias in genetic association studies and impact factor. **Molecular Psychiatry.** 2009.

MUNAFÒ M.R. *et al.* Lack of association of DRD2 rs1800497 (Taq1A) polymorphism with smoking cessation in a nicotine replacement therapy randomized trial. **Nicotine & Tobacco Research.** 2009.

MUNAFÒ, M.R. *et al.* The genetic basis for smoking behavior: A systematic review and meta-analysis. **Nicotine and Tobacco Research.** 2004.

MUNAFÒ, M.R. *et al.* Association of the DRD2 gene Taq1A polymorphism and smoking behavior: A meta-analysis and new data. **Nicotine & Tobacco Research.** v. 11, n. 1:64–76. 2009b.

NESTLER, E.J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. **Nat Rev Neurosci.** 2001.

NEVILLE, M.J.; JOHNSTONE, E.C.; WALTON, R.T. Identification and characterization of ANKK1: a novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. **Hum. Mutat.** 2004.

NISSBRANDT, H. *et al.* Inhibition of cytochrome P450 2E1 induces an increase in extracellular dopamine in rat substantia nigra: a new metabolic pathway? **Synapse.** 2001.

NOBLE, E.P. *et al.* Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor-binding characteristics in alcoholism. **Arch Gen Psychiatry.** 1991

NÚCLEO EINSTEIN DE ÁLCOOL E DROGAS DO HOSPITAL ISRAELITA ALBERT EINSTEIN (NEAD). **Neurobiologia da dependência química: Neuroadaptações**. Hospital Israelita Albert Einstein. 2009. Disponível em <http://apps.einstein.br/alcooledrogas/novosite/atualizacoes/as_116.htm> Acesso em 20 dez. 2015.

_____. **Neurociências: Consumo e dependência de substâncias psicoativas: resumo do relatório elaborado pela OMS - parte I**. Hospital Israelita Albert Einstein. 2009b. Disponível em <http://apps.einstein.br/alcooledrogas/novosite/atualizacoes/as_170.htm> Acesso em 20 dez. 2015.

OHMOTO, M. *et al.* Association Between Dopamine Receptor 2 TaqIA Polymorphisms and Smoking Behavior With an Influence of Ethnicity: A Systematic Review and Meta-Analysis Update. **Nicotine Tob Res.** 2013.

OLIVEIRA, Vanderlei de. **Perfil dos pacientes tabagistas internados no hospital de custódia e tratamento psiquiátrico de Santa Catarina.** Monografia (Graduação em Medicina). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2008.

ONLINE MENDELIAN INHERITANCE IN MAN – OMIM. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 608774: 11/11/2008. Disponível em: <<http://omim.org/entry/608774>> Acesso em 20 dez. 2015.

_____. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 126450: 01/05/2015. Disponível em: <<http://www.omim.org/entry/126450>> Acesso em 20 dez. 2015.

ONU – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Proibir propaganda de cigarro é uma das formas mais eficazes para reduzir consumo, afirma OMS.** Disponível em <<http://www.onu.org.br/proibir-propaganda-de-cigarro-e-uma-das-formas-mais-eficazes-para-reduzir-consumo-afirma-oms/>> Acesso em 20 dez. 2015.

PANTANI, D; PINSKY, I.; MONTEIRO, A. **Publicidade de Tabaco no Ponto de Venda.** São Paulo: Ed. do Autor/ Aliança de Controle do Tabagismo. 2011. 96p. Disponível em <http://actbr.org.br/uploads/conteudo/662_PUBLICIDADE_TABACO.pdf> Acesso em 20 dez. 2015.

PARANÁ. Governo do Estado do Paraná. SEAB - Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Economia Rural – DERAL. **Fumo - Análise da Conjuntura Agropecuária.** Paraná. 2012. Disponível em <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/fumo_2012_13.pdf> Acesso em 21 dez. 2015.

PATSOPOULOS, N.A.; TATSIONI, A., IOANNIDIS J.P. Claims of sex differences: An empirical assessment in genetic associations. **The Journal of the American Medical Association.** 2007.

PAWLINA, M.M.C. *et al.* Ansiedade e baixo nível motivacional associados ao fracasso na cessação do tabagismo. **J. bras. psiquiatr.**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 2, p. 113-120, 2014. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0047-20852014000200113&lng=en&nrm=iso>. access on 29 Jan. 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/0047-2085000000014>.

PAWLINA, M.M.C. *et al.* Abandonment of nicotine dependence treatment: A cohort study. **Sao Paulo Med. J.**, São Paulo, 2016

PEARCE, J. et al. Tobacco retail environments and social inequalities in individual-level smoking and cessation among Scottish adults. **Nicotine Tob. Res.** 2015.

PEARSON-FUHRHOP, K.M. *et al.*, Dopamine genetic risk score predicts depressive symptoms in healthy adults and adults with depression. **PLoS One.** 2014.

PELKONEN O. *et al.* Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status. **Arch Toxicol.** 2008.

PÉREZ-TRULLÉN, A. *et al.* La autoeficacia como método de deshabituación tabáquica. **Anal Psiq.** 2001.

PETERSON, L. A. Formation, Repair, and Genotoxic Properties of Bulky DNA Adducts Formed from Tobacco-Specific Nitrosamines. **Journal of Nucleic Acids.** 2010.

PICCIOTTO, M. R.; MINEUR, Y.S; Molecules and circuits involved in nicotine addiction: the many faces of smoking. **Neuropharmacology.** 2014.

PINTO, M. F. T. **Custos de doenças tabaco – relacionadas: uma análise sob a perspectiva da economia e da epidemiologia.** Tese (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública) Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro. 2007.

PINTO, M. T.; PICHON-RIVIERE, A. **Carga das doenças tabaco relacionadas para o Brasil.** São Paulo: Aliança do Controle do Tabagismo – ACT. 2012. 41p. Disponível em <http://actbr.org.br/uploads/conteudo/721_Relatorio_Carga_do_tabagismo_Brasil.pdf> Acesso em 20 dez. 2015.

PINTO, M.T.; PICHON-RIVIERE, A.; BARDACH, A. Estimativa da carga do tabagismo no Brasil: mortalidade, morbidade e custos. **Cad. Saúde Pública.** Rio de Janeiro, 2015.

PLANETA, C S.; CRUZ, F. C. Bases neurofisiológicas da dependência do tabaco. **Rev. Psiq. Clín.** [online]. 2005.

PLUMMER, H.K.; SHEPPARD, B.J.; SCHULLER, H.M. Interaction of tobacco-specific toxicants with nicotinic cholinergic regulation of fetal pulmonary neuroendocrine cells: implications for pediatric lung disease. **Exp Lung Res.** 2000.

POHJALAINEN, T *et al.* The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. **Molec. Psychiat.** 1998.

PORUBSKY, P. R.; MENEELY, K. M.; SCOTT, E. E. Structures of Human Cytochrome P-450 2E1: Insights into the binding of inhibitors and both small molecular weight and fatty acid substrates. **J. Biol. Chem.** 2008.

RADEMACHERA, L. *et al.* Effects of Smoking Cessation on Presynaptic Dopamine Function of Addicted Male Smokers. **Biological Psychiatry.** 2015.

RAMOS NETO, E. S. **Estudo de associação dos polimorfismos 3' UTR VNTR do gene SLC6A3 e A-1438G e T102C do gene 5HT2A e tabagismo em uma amostra populacional no município de Parnaíba – PI.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal do Piauí. Parnaíba. 2013.

RANDALL, V. R. **History of Tobacco.** Boston University Medical Center, Community Outreach Health Information System. 1999. Disponível em <<http://academic.udayton.edu/health/syllabi/tobacco/history.htm>> Acesso em 21 dez. 2015.

RANG, H.P.; DALE, M.M; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. **Rang & Dale : Farmacologia.** 7a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

REIS JÚNIOR, D. **Cigarro Porto (Médicos) - Anos 70.** Propagandas Históricas, 2015. Disponível em <<http://www.propagandashistoricas.com.br/2015/04/cigarro-porto-medicos-anos-70.html/>> Acesso em 22 dez. 2015.

REUTER, M. *et al.* The role of the TPH1 and TPH2 genes for nicotine dependence: a genetic association study in two different age cohorts. **Neuropsychobiology.** 2007.

RICHTER, A *et al.* Valenced action/inhibition learning in humans is modulated by a genetic variant linked to dopamine D2 receptor expression. **Front Syst Neurosci.** 2014.

RIEDER, A.; *et al.* Nocturnal sleep-disturbing nicotine craving: a newly described symptom of extreme nicotine dependence. **Acta Med Austriaca.** 2001.

RITCHIE, T., NOBLE, E.P. Association of seven polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene with brain receptor-binding characteristics. **Neurochem. Res.** 2003.

ROSE, J.E *et al.* Kinetics of brain nicotine accumulation in dependent and nondependent smokers assessed with PET and cigarettes containing ¹¹C-nicotine. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2010.

ROSEMBERG J. **Nicotina: droga universal.** INCA/MS. São Paulo. 2003.

ROZEN, S; SKALETSKY, H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. **Methods Mol Biol.** 2000.

SABOL, S.Z. *et al.* A genetic association for cigarette smoking behavior. **Health Psychol.** 1999.

SANCHES FILHO, P.J. *et al.* Pré-concentração de nitrosaminas a partir de amostras aquosas por extração em fase sólida e cromatografia capilar eletrocínética micelar. **Quim. Nova.** 2003.

SANTOS, V. A. **Inter-relações entre tabagismo, sintomas depressivos e genética.** Tese (Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2011.

- SARGENT J.D.; DIFRANZA, JR. Tobacco control for clinicians who treat adolescents. **CA Cancer J Clin.** 2003.
- SCALZO, P. L. TEIXEIRA-JÚNIOR, A. L. Participação dos núcleos da base no controle do tônus e da locomoção. **Fisioter. Mov.** Curitiba. 2009.
- SCHULLER, H.M. Cell type specific, receptor-mediated modulation of growth kinetics in human lung cancer cell lines by nicotine and tobacco-related nitrosamines. **Biochem Pharmacol.** 1989.
- SCHULLER, H.M. *et al.* Interaction of tobacco-specific toxicants with the neuronal alpha(7) nicotinic acetylcholine receptor and its associated mitogenic signal transduction pathway: potential role in lung carcinogenesis and pediatric lung disorders. **Eur J Pharmacol.** 2000.
- SCHULLER, H.M. Nitrosamines as nicotinic receptor ligands. **Life Sci.** 2007.
- SCHULLER, H.M.; ORLOFF, M. Tobacco-specific carcinogenic nitrosamines. Ligands for nicotinic acetylcholine receptors in human lung cancer cells. **Biochem Pharmacol.** 1998.
- SIEMINSKA, A. *et al.* Influences of polymorphic variants of DRD2 and SLC6A3 genes, and their combinations on smoking in Polish population. **BMC Medical Genetics,** 2009.
- SIEMINSKA, A. *et al.* Influences of polymorphic variants of DRD2 and SLC6A3 genes, and their combinations on smoking in Polish population. **BMC Medical Genetics.** 2009.
- SILVA, A. M.; GUIMARAES, L. A. M. Occupational Stress and Quality of Life in Nursing. **Paidéia (Ribeirão Preto),** Ribeirão Preto. 2016.
- SILVA, M.T.B. *et al.* Álcool e nicotina: mecanismos de dependência. **Rev Neurocienc.** 2010.
- SILVEIRA, R.L.L.; DORNELLES, M. Mercado mundial de tabaco, concentração de capital e organização espacial. Notas introdutórias para uma geografia do tabaco. **Scripta Nova.** 2010.
- SOUZA CRUZ. **História do Tabaco.** Souza Cruz, 2011a. Disponível em <http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_7UVF24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KPU?opendocument&SKN=1> Acesso em 21 dez. 2015.
- SOUZA CRUZ. **Impacto e importância econômica.** Sousa Cruz, 2015. Disponível em <http://www.souzacruz.com.br/group/sites/sou_7uvf24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KFB?opendocument> Acesso em 20 dez. 2015.

SPANAGEL, R. WEISS, F. The dopamine hypothesis of reward: past and current status. **Trends Neurosci.** 1999.

STAPLETON, J. A. Association between DRD2/ANKK1 Taq1A genotypes, depression and smoking cessation with nicotine replacement therapy. **Pharmacogenetics and Genomics.** 2011.

STEPANOV, I. *et al.* Monitoring Tobacco-Specific N-Nitrosamines and Nicotine in Novel Marlboro and Camel Smokeless Tobacco Products: Findings From Round 1 of the New Product Watch. **Nicotine & Tobacco Research.** 2012.

STEPPUHN, A. *et al.* Nicotine's defensive function in nature. **PLoS Biol.** 2004.

SUEHARA, L. Y.; SIMONE, K.; MAIA, M. Avaliação do envelhecimento facial relacionado ao tabagismo. **An Bras Dermatol.** 2006.

SULLIVAN, P.F.; KENDLER, K.S. The genetic epidemiology of smoking. **Nicotine Tob Res.** 1999.

SUN, F.; *et al.* Drug-metabolising enzyme polymorphisms and predisposition to antituberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. **Int J Tuberc Lung Dis.** 2008.

SWAN, G. E.; *et al.* **Dopamine receptor DRD2 genotype and smoking cessation outcome following treatment with bupropion SR** . Pharmacogenomics Journal. 2005.

THOMPSON J., *et al.* D2 dopamine receptor gene (DRD2) Taq1 A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. **Pharmacogenetics.**

TRUSHIN, N.; RIVENSON, A.; HECHT S.S. Evidence Supporting the Role of DNA Pyridyloxobutylation in Rat Nasal Carcinogenesis by Tobacco-specific Nitrosamines. **Cancer Research.** 54. pp 1205-1211. mar. 1994.

U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (HHS). **How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease: A Report of the Surgeon General.** Atlanta:

_____. **Smoking and tobacco use: Data and statistics – Fact Sheets: Youth and Tobacco Use.** Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. 2015. Disponível em <http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/fact_sheets/youth_data/tobacco_use/> acesso em 20 dez. 2015.

_____. **Smoking and tobacco use: Data and statistics – Fact Sheets: Fast facts.** Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. 2015b. Disponível em <

http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/fact_sheets/fast_facts/ acesso em 20 dez. 2015.

_____. **The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General**. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. 2004.

U.S. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). Genes and Disease [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US). **Lung carcinoma, small cell**. 1998a. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22244/>> Acesso em 22 dez. 2015.

_____. Genes and Disease [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US). **Introduction to Genes and Disease**. 1998b. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22185/>> Acesso em 22 dez. 2015.

UMENO, M. *et al.* Human ethanol-inducible P450IIE1: complete gene sequence, promoter characterization, chromosome mapping, and cDNA-directed expression. **Biochemistry**. 1988.

UNTERGRASSER, A. *et al.* Primer3 - new capabilities and interfaces. **Nucleic Acids Research**. 2012.

UPADHYAYA, P. Identification of Adducts Formed in the Reaction of 5'-Acetoxy-N'-Nitrosornicotine with Deoxyguanosine and DNA. **Chem Res Toxicol**. 2006.

USIELLO, A. *et al.* Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. **Nature**. 2000.

VENTURA, A. L. M. *et al.* Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Rev Psiq Clín**. 2010.

VERDE, Z.; *et al.* 'Smoking Genes': A Genetic Association Study. **PLoS One**. 2011;

VULCZAK, A. **Análise de metilação do gene PRKAA2 (AMPK α 2) em gêmeos monozigóticos discordantes para aptidão cardiorrespiratória**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). UNICENTRO. Guarapuava. 2013.

WANG, M. *et al.* Identification of adducts formed by pyridyloxobutylation of deoxyguanosine and DNA by 4-(acetoxymethylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, a chemically activated form of tobacco specific carcinogens. **Chem Res Toxicol**. 2003.

WILCOX, C.S.; NOBLE, E.P.; OSKOOILAR, N. ANKK1/DRD2 Locus Variants Are Associated With Rimonabant Efficacy in Aiding Smoking Cessation. **Journal of Investigative Medicine**. Vol 59 Issue 8. 2015

WJST, M. *et al.* Methods of Genotyping. **Pharmacogenetics**. New York: Informa Health Care, Methods of Genotyping. 2006.

WORD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO report on the global tobacco epidemic 2015: raising taxes on tobacco**. World Health Organization. Geneva. 2015. Disponível em <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/178574/1/9789240694606_eng.pdf?ua=1&ua=1> Acesso em 20 dez. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **About the WHO Framework Convention on Tobacco Control**. 2013. Disponível em <<http://www.who.int/fctc/about/en/index.html>> Acesso em 22 dez. 2015.

_____. **Gender, Health and Tobacco**. Geneva. 2003.

_____. **Global status report on noncommunicable diseases 2014**. Geneva, 2014. Disponível em <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf> Acesso em 20 dez. 2015.

_____. **Global status report on noncommunicable diseases 2010**. Geneva, 2011.

_____. **WHO report on the global tobacco epidemic, 2013: enforcing bans on tobacco advertising, promotion and sponsorship**. 2013.

_____. **The World Health Report: Reducing Risks and, Promoting Healthy Lifestyles**. Geneva, Switzerland, 2002.

_____. **Media Centre: tobacco - fact sheets**. World Health Organization. Geneva. 2015b. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/en/>> Acesso em 20 dez. 2015.

WORLD LUNG FOUNDATION. **Cientos de millones de personas en América Latina sufren el creciente riesgo de enfermedad y muerte relacionadas con el tabaco**. 2013. Disponível em <<http://www.tobaccoatlas.org/uploads/Images/PDFs/TA4Spanish.pdf>> Acesso em 20 dez. 2015.

WU, X. *et al.* D2 Dopamine Receptor Gene Polymorphisms among African-Americans and Mexican-Americans: A Lung Cancer Case-Control Study. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. 2000.

YOSHIDA, K. *et al.* Association between the dopamine D2 receptor A2/A2 genotype and smoking behavior in the Japanese. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. 2001.

YUDKIN P. *et al.* Effectiveness of nicotine patches in relation to genotype in women versus men: Randomised controlled trial. **British Medical Journal** 2004.

ZUO, Y. *et al.* DRD2-related TaqIA polymorphism modulates motivation to smoke. **Nicotine & tob res.** 2009.

APÊNDICES

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS MINISTRO REIS VELLOSO – CMRV**

Av. São Sebastião, 2819. Reis Velloso, CEP: 64204-035 – Parnaíba-PI
Fone: (86) 3315-5510 / Fax: (86) 3315-5510

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

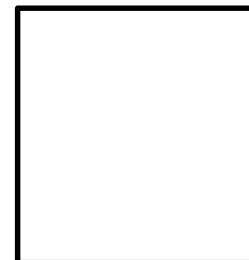
Eu _____, RG _____, declaro que fui devidamente esclarecido(a) sobre todas as condições que constam no documento “**Esclarecimentos ao sujeito da pesquisa**” do projeto intitulado “*Avaliação Citogenética e Molecular de Genotoxicidade em uma população de tabagistas no Estado do Piauí*”, que tem como principais pesquisadores o Prof. Dr. Fábio José Nascimento Motta e a Profa. Dra. Renata Canalle.

Fui esclarecido especialmente no que diz respeito ao objetivo da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido, aos riscos e benefícios. Declaro que tenho pleno conhecimento dos direitos e das condições que me foram assegurados, a seguir relacionados:

1. A garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida relativa aos procedimentos, riscos, benefícios e outras situações relacionadas com a pesquisa;
2. A liberdade de retirar meu consentimento e deixar de participar a qualquer momento, e sem que isso traga prejuízo à continuação do meu acompanhamento e tratamento quando necessários;
3. A segurança de que não serei identificado e que minhas informações serão mantidas em segredo;
4. A certeza de que o material genético de minha amostra será codificado, armazenado e utilizado para pesquisas futuras eu serei informado(a), autorizando ou não o uso de minha amostra.

Declaro que concordo inteiramente com todas as condições que me foram apresentadas e que livremente, manifesto a minha vontade de participar do referido projeto.

Parnaíba, _____/_____/_____.



Assinatura do(a) voluntário(a)

Impressão digital

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO

Avaliação Citogenética e Molecular de Genotoxicidade em uma População de Tabagistas no Estado do Piauí

De início queremos agradecer ao(à) senhor(a), por participar deste estudo. Tudo o que o(a) senhor(a) responder neste caderno será estritamente confidencial e as informações colhidas das inúmeras pessoas que irão participar deste estudo serão usadas apenas em relatos científicos, sem nenhuma identificação pessoal. Os possíveis benefícios deste estudo dependem de que as respostas sejam as mais reais possíveis. Por favor, pergunte se não entender o significado de alguma questão. A qualquer momento o(a) senhor(a) pode se recusar a continuar ou a responder perguntas específicas. Além do questionário o estudo inclui uma coleta de amostra de sangue. Se houver necessidade de entrar em contato com o(a) senhor(a), poderia fornecer seu endereço e telefone?

Endereço: _____

Bairro: _____

Cidade: _____

CEP: _____

Telefone: (____) _____

Nº _____

QUESTIONÁRIO

1 - Sexo:

() Masculino

() Feminino

() Prefere não declarar

2 - Idade:

3 - Escolaridade?

() 1º grau incompleto

() 1º grau completo

() 2º grau incompleto

() 2º grau completo

() Superior incompleto

() Superior completo

4 - O(a) senhor(a) pratica atividades esportivas?

() Sim

() Não

5 - Há algum fumante em sua casa?

() Pai

() Mãe

() Avó

() Avô

() Irmão

() Padrasto

() Madrasta

() Não há

() Outro

6 - Quantos amigos seus são fumantes?

- () Nenhum () Um
() Dois () Mais de dois
-

7 - Alguém na família sofre ou sofreu de alguma dessas doenças?

- () Câncer de bexiga
() Doenças cardíacas ou vasculares
() Câncer de pulmão
() Bronquite crônica
() Asma
() Câncer de boca
() Enfisema pulmonar
() Câncer de laringe
() Osteoporose
() Mortalidade neonatal
() Lesões dos tecidos da boca e dos lábios
() Baixo peso em recém nascidos de gestantes que fumam
() Nenhuma
-

8 - Quais dessas doenças já foram diagnosticadas no(a) senhor(a)?

- () Câncer de bexiga
() Doenças cardíacas ou vasculares
() Câncer de pulmão
() Bronquite crônica
() Asma
() Câncer de boca
() Enfisema pulmonar
() Câncer de laringe
() Osteoporose
() Lesões dos tecidos da boca e dos lábios
() Nenhuma
-

9 - O(a) senhor(a) pensa que fumar é prejudicial para a saúde?

- () Sim () Não

() Não sei

10 – Em quais das seguintes doenças e riscos para a saúde o(a) senhor(a) acredita que o tabaco tenha importância?

- () Doenças cardíacas ou vasculares
() Câncer de pulmão
() Bronquite crônica
() Asma
() Câncer de boca
() Enfisema pulmonar
() Câncer de laringe
() Osteoporose
() Mortalidade neonatal
() Lesões dos tecidos da boca e dos lábios
() Risco de baixo peso em recém nascidos de gestantes que fumam
() Nenhuma
-

11 - Como o(a) senhor(a) avalia a atuação do governo mediante ao tema “tabagismo”?

- () De maneira exagerada
() Suficientemente
() Insuficientemente
() Não se trata dessa problemática
() Não sei
-

12 - Com qual frequência consome bebidas alcóolicas?

- () Todos os dias
() Duas ou três vezes por semana
() Uma vez por semana
() De uma a três vezes ao mês
() Algumas vezes ao ano
() Consumiu uma vez há mais de 12 meses
() Nunca bebeu
-

13 - Como o(a) senhor(a) avalia a atuação do governo mediante ao tema “alcooolismo”?

- () De maneira exagerada
 () Suficientemente
 () Insuficientemente
 () Não se trata dessa problemática
 () Não sei

14 - O(a) senhor(a) é fumante?

- () Sim () Não

Caso tenha respondido “Não” na questão anterior, agradecemos mais uma vez sua participação neste trabalho e informamos que o(a) senhor(a) não precisa responder as próximas questões, pois elas se destinam a pessoas que já tenham fumado. Caso tenha escolhido a opção “Sim” prossiga normalmente no questionário.

15 - Com que idade começou a fumar regularmente? (Fumar regularmente significa ter fumado pelo menos uma vez por semana em 6 meses ou mais)

- () Menos de 10 anos de idade
 () Entre 10 anos e 13 anos de idade
 () Entre 14 anos e 16 anos de idade
 () Entre 17 anos e 19 anos de idade
 () Com 20 anos de idade ou mais
 () Não fumei regularmente

16 - Em sua opinião, qual o fator mais o influenciou a começar a fumar?

- () O fato um de seus pais ser fumante
 () Influência dos amigos
 () A propaganda de cigarros
 () A vontade de imitar meus ídolos

- () A sensação de estar desrespeitando as leis
 () O fato de deixar os meus pais irritados
 () A vontade de aparentar ser mais velho
 () Acreditar parecer mais responsável pelo fato de fumar

17 – Com que frequência o senhor(a) fuma?

- () Diariamente
 () Algumas vezes por semana
 () Só nos fins de semana
 () Algumas vezes ao mês
 () Algumas vezes ao ano
 () Faz mais de um ano que não fumo

Caso tenha escolhido a opção “Faz mais de um ano que não fumo”, na questão anterior, vá para a questão de número 20, caso tenha escolhido qualquer outra opção, prossiga normalmente no questionário.

18 - Qual a quantidade de cigarros você fuma por dia?

- () Menos de uma carteira
 () Uma carteira
 () Duas carteiras ou mais

19 - Qual a razão principal pela qual continua fumando?

- () Para relaxar
 () Por prazer
 () Por imitação
 () Por vício ou rotina
 () Para me distrair
 () Outras razões

20 - Quantas vezes tentou deixar de fumar?

- Uma vez
- Duas vezes
- Mais de duas vezes
- Nunca tentei

Caso tenha respondido "Nunca tentei" na questão anterior, passe para o Teste de Fagerström, caso tenha escolhido qualquer outra opção prossiga normalmente no questionário.

21 - Por quanto tempo ficou sem usar o tabaco?

- Menos que 6 meses
 - Mais que 6 meses e menos que 1 ano
 - Mais de 1 ano
-

22 - Dos sintomas de abstinência abaixo citados, quais você sentiu no período em que esteve sem fumar?

- Tremor nas mãos
 - Insônia
 - Ansiedade
 - Nervosismo/irritação
 - Dor de cabeça
 - Teve alucinações
 - Outros
 - Não teve sintomas de abstinência
-

23 - Se ex-fumante, quais motivos o fizeram abandonar o vício?

- Influência da família
- Informações em órgão de imprensa, livros, revistas, etc.
- Piora na aparência física, envelhecimento precoce
- Dificuldade sexual
- Doenças respiratórias (bronquite, enfisema, falta de fôlego, asma, etc)
- Receio de ter doença grave (câncer, infarto, enfisema, etc)

- Morte ou doença grave de amigo ou familiar relacionada ao tabaco
- Gravidez
- Prejuízo do rendimento profissional
- Prejuízo do relacionamento Social
- Problemas no aparelho digestivo (gastrites, problemas bucais, úlceras)
- Odor do cigarro

TESTE DE FAGERSTRÖM

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

- Dentro de 5 minutos
 entre 6 e 30 minutos
 entre 31 e 60 minutos
 após 60 minutos

2 – Você acha difícil não fumar em lugares proibidos como igrejas, bibliotecas, etc.?

- Sim Não

3 – Qual o cigarro do dia que traz mais satisfação?

- O primeiro da manhã
 outro

4 – Quantos cigarros você fuma por dia?

- Menos de 10 de 11 a 20
 de 21 a 30 mais de 31

5 – Você fuma mais frequentemente pela manhã?

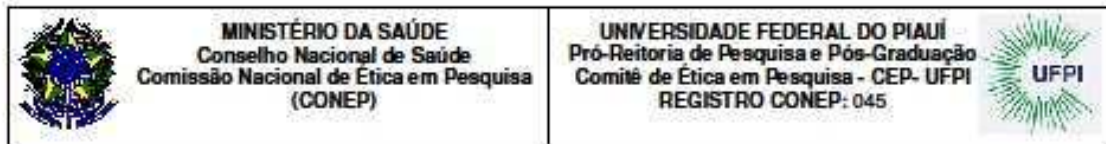
- sim não

6 – Você fuma mesmo doente quando precisa ficar de cama a maior parte do tempo?

- sim não

ANEXOS

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI



CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Avaliação Citogenética e Molecular de Genotoxicidade em uma população Tabagista do estado do Piauí

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0235.0.045.000-10

Pesquisador Responsável: Fabio José Nascimento Motta

Este projeto foi **APROVADO** em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:


Agosto/2011
Agosto/2012

Relatório parcial
Relatório final

Os membros do CEP-UFPI não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA APROVAÇÃO: 10/09/2010

Teresina, 14 de Setembro de 2010.


 Prof. Dr. Carlos Ernando da Silva
 Comitê de Ética em Pesquisa – UFPI
 COORDENADOR