

Isadora Costa Silva Manieri Câmara

**Suscetibilidade genética ao tabagismo e doença pulmonar obstrutiva
crônica: prevalência e relação com medida de monóxido de carbono
exalado**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Pneumologia
Orientador: Prof. Dr. Alberto Cukier
Co-orientadora: Dra. Carla Luana Dinardo

São Paulo

2023

Isadora Costa Silva Manieri Câmara

**Suscetibilidade genética ao tabagismo e doença pulmonar obstrutiva
crônica: prevalência e relação com medida de monóxido de carbono
exalado**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Pneumologia
Orientador: Prof. Dr. Alberto Cukier
Co-orientadora: Dra. Carla Luana Dinardo

SÃO PAULO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Câmara, Isadora Costa Silva Manieri
Susceptibilidade genética ao tabagismo e doença
pulmonar obstrutiva crônica : prevalência e relação
com medida de monóxido de carbono exalado / Isadora
Costa Silva Manieri Câmara. -- São Paulo, 2023.
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Pneumologia.
Orientador: Alberto Cukier.
Coorientadora: Carla Luana Dinardo.

Descritores: 1. Doença pulmonar obstrutiva crônica
2. Citocromo P-450 CYP2A6 3. Polimorfismo de
Nucleotídeo Único 4. Gene CHRNA 5. Gene FAM13A
6. Tabagismo

USP/FM/DBD-075/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

À minha avó Luiza (em memória), que junto a Deus, guia meus caminhos.

Aos meus pais, Claudia e Ronaldo, por serem um exemplo de força, perseverança e superação na vida. Meus amores eternos.

Ao meu marido Rodrigo, que durante toda esta jornada esteve ao meu lado, me incentivando e acreditando em meu potencial.

Esta tese também é resultado do esforço de vocês.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço à Deus. Foi Ele que abriu os caminhos para que eu pudesse vivenciar esta experiência incrível em minha vida, e esteve ao meu lado, me sustentando, durante toda esta jornada.

Aos meus pais, por acreditarem no meu potencial e quão longe eu conseguiria chegar. Durante toda minha vida apoiaram minhas escolhas e fizeram o impossível para que eu realizasse todos os meus sonhos.

Ao meu marido Rodrigo, por sempre me incentivar e acreditar em mim, até mesmo quando eu achava que não fosse mais possível. Obrigada por ser minha paz em todos os momentos.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Alberto Cukier, que acreditou em meu potencial e confiou em meu trabalho. Obrigada pelo apoio e ensinamentos ao longo destes anos.

Ao meu querido orientador, Dr. Frederico Leon Arrabal Fernandes, que sempre me incentivou e me levou a conquistar coisas que jamais havia imaginado. Obrigada pela confiança em meu trabalho e por todos estes anos de parceria e ensinamentos.

À minha querida orientadora, Dra. Carla Luana Dinardo, que abriu as portas para mim desde o começo e acreditou em meu potencial. Uma pessoa doce, generosa e de um coração imenso, a qual eu tenho muito carinho.

Aos colegas do Laboratório de Imunohematologia Avançada da Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, que me acolheram desde o início da minha jornada, prestaram suporte quando necessário e estiveram presentes em diversos momentos ao longo destes anos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

**“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,
nunca tem medo e nunca se arrepende”**

Leonardo da Vinci

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO.....	21
1.1 Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	21
1.1.2 Dados epidemiológicos da DPOC no mundo e no Brasil	27
1.1.3 Diagnostico da DPOC	31
1.2 Predisposição genética ao tabagismo	38
1.2.1 Prevalência do tabagismo no mundo e no Brasil	38
1.2.2 Genética do tabagismo	45
1.2.2.1 Genes que influenciam a resposta à nicotina.....	47
1.2.3 Como avaliar o tabagismo.....	56
1.2.3.1 Auto-referido	57
1.2.3.2 Cotinina	58
1.2.3.3 Monóxido de carbono exalado (COex).....	60
1.3 Avaliação da dependência tabágica em pacientes com DPOC.....	61
2 OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO.....	62
2.1 Objetivo primário	62
2.2 Objetivos secundários	62
2.3 Justificativa	62
3 MATERIAIS E MÉTODOS	63
3.1 Desenho do estudo	63
3.2 Critérios de inclusão dos participantes	66
3.3 Critérios de exclusão dos participantes	66
3.3.1 Grupo DPOC:	66
3.3.2 Grupo tabagista:	67
3.4 Determinação da concentração de COex.....	67
3.5 Genotipagem de <i>CYP2A6</i> , <i>CHRNA3</i> , <i>CHRNA5</i> e <i>FAM13A</i>	67
3.5.1 <i>CYP2A6</i>	68
3.5.2. <i>CHRNA5</i> , <i>CHRNA3</i> e <i>FAM13A</i>	72
3.6 Análise estatística.....	73

4	RESULTADOS	74
4.1	Pacientes Grupo DPOC	74
4.2	Grupo Tabagista.....	83
4.3	Comparação entre os grupos	90
4.4	Subamostra de fumantes e ex-fumantes.....	94
5	DISCUSSÃO.....	114
5.1	Limitações do estudo.....	114
5.2	Interpretação e análise crítica dos resultados	114
6	CONCLUSÃO	122
7	REFERÊNCIAS	124
8.1	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	131
8.2	Formulário Pacientes Grupo DPOC	134
8.3	Formulário Pacientes Grupo Tabagista	137
8.4	CAT	139

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etiologia, patobiologia e patologia da DPOC.....	24
Figura 2. Principais causas de morte no mundo.....	28
Figura 3. Principais causas de morte em países de média-baixa renda	29
Figura 4. Tendências das causas básicas de morte.....	31
Figura 5. Caminhos para o diagnóstico da DPOC	32
Figura 6. A refinada ferramenta de avaliação ABCD	38
Figura 7. Prevalência de fumantes no Brasil	43
Figura 8. Gráfico de estudo genome-wide indicando genes que apresenta maior associação com DPOC	52
Figura 9. Esquema do agrupamento de genes <i>CYP2A6-2B-2F</i>	54
Figura 10. Fluxograma amostral de pacientes do Grupo DPOC.	75
Figura 11. Fluxograma amostral de pacientes do Grupo Tabagista	84
Figura 12. Frequências genotípicas dos polimorfismos avaliados, segundo grupo	94
Figura 13. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo grupo de estudo.	105
Figura 14. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo hábito de fumar.	107
Figura 15. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo COex na amostra total.	108
Figura 16. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo COex no grupo de indivíduos ex-tabagistas.....	109
Figura 17. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo COex no grupo de indivíduos tabagistas.....	110
Figura 18. Boxplot para comparação da distribuição do Escore de mutações genotípicas segundo função pulmonar.....	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Indicadores chave para considerar um diagnóstico de DPOC	33
Tabela 2. Classificação da gravidade de limitação do fluxo aéreo na DPOC..	35
Tabela 3. Escala de dispneia MRC modificada.....	36
Tabela 4. Prevalência de fumantes atuais de tabaco fumado (%), por região, segundo a OMS, no ano de 2010.....	41
Tabela 5. Proporção de fumantes atuais de tabaco com 18 anos ou mais (%)	44
Tabela 6. Sequência de primers utilizados nas reações de Nested PCR para amplificação do gene <i>CYP2A6</i>	70
Tabela 7. Sequência dos primers de amplificação e sondas fluorogênicas para PCR em tempo real.....	73
Tabela 8. Características demográficas, socioeconômicas e nutricional dos pacientes diagnosticados com DPOC	76
Tabela 9. Descrição da função respiratória, hábito de fumar e sintomas mais frequentes entre dos pacientes diagnosticados com DPOC segundo status tabágico.....	77
Tabela 10. Frequências alélicas dos polimorfismos de <i>CYP2A6</i> , <i>CHRNA3</i> , <i>CHRNA5</i> e <i>FAM13A</i> , em pacientes com DPOC	78
Tabela 11. Frequências genotípicas dos polimorfismos de <i>CYP2A6</i> , <i>CHRNA3</i> , <i>CHRNA5</i> e <i>FAM13A</i> em pacientes com DPOC.	79
Tabela 12. Descrição genotípica entre pacientes com DPOC participantes do estudo, segundo carga tabágica	80
Tabela 13. Descrição genotípica entre pacientes com DPOC participantes do estudo, segundo tempo de tabagismo	81
Tabela 14. Distribuição de pacientes DPOC com resultado COex igual ou superior à 6 e menor que 6 em relação ao relato frente ao hábito tabágico	82
Tabela 15. Descrição das mutações genotípicas mais frequentes entre pacientes com DPOC ex-tabagistas participantes do estudo, segundo resultado do COEx.....	83
Tabela 16. Características demográficas, socioeconômicas e de nutricional dos pacientes tabagistas participantes do estudo.....	85

Tabela 17. Descrição da função respiratória, tabagismo e sintomas mais frequentes entre pacientes participantes tabagistas do estudo.....	86
Tabela 18. Frequências alélicas dos polimorfismos de <i>CYP2A6</i> , <i>CHRNA3</i> , <i>CHRNA5</i> e <i>FAM13A</i> , em pacientes do Grupo Tabagista.....	87
Tabela 19. Frequências genótípicas dos polimorfismos de <i>CYP2A6</i> , <i>CHRNA3</i> , <i>CHRNA5</i> e <i>FAM13A</i> em pacientes do Grupo Tabagista.....	88
Tabela 20. Descrição das mutações genótípicas mais frequentes entre participantes tabagistas do estudo, segundo carga tabágica	89
Tabela 21. Descrição das mutações genótípicas mais frequentes entre participantes tabagistas do estudo, segundo tempo de tabagismo	90
Tabela 22. Características demográficas, socioeconômicas e nutricional dos pacientes participantes do estudo, segundo grupo.	92
Tabela 23. Descrição da função respiratória, características do tabagismo e sintomas mais frequentes entre pacientes participantes do estudo.	93
Tabela 24. Características demográficas, socioeconômicas e nutricionais dos pacientes participantes do estudo, segundo tabagismo. São Paulo, 2022.	95
Tabela 25. Descrição da função respiratória, hábito de fumar e sintomas mais frequentes entre pacientes participantes do estudo, segundo tabagismo.....	96
Tabela 26. Descrição das mutações genótípicas mais frequentes entre pacientes participantes do estudo, segundo tabagismo.....	97
Tabela 27. Características demográficas, socioeconômicas e nutricional dos pacientes fumantes participantes do estudo, segundo classificação COex.	98
Tabela 28. Descrição da função respiratória, tabagismo e sintomas mais frequentes entre pacientes fumantes participantes do estudo segundo classificação COex.....	99
Tabela 29. Descrição das mutações genótípicas mais frequentes entre pacientes participantes do estudo, segundo resultados de COex entre pacientes fumantes.	100
Tabela 30. Características demográficas, socioeconômicas e de nutricional dos pacientes ex-fumantes participantes do estudo, segundo classificação COex.	101

Tabela 31. Descrição da função respiratória, hábito tabágico e sintomas mais frequentes entre pacientes ex-fumantes participantes do estudo, segundo classificação COex.....	102
Tabela 32. Descrição das mutações genótípicas mais frequentes entre pacientes participantes ex-fumantes do estudo, segundo classificação COex	103
Tabela 33. Matriz de correlação de Spearman para avaliar a correlação entre os resultados de mutações gênicas apresentados.....	104
Tabela 34. Associação entre Grupo de Estudo (referência - Grupo DPOC) e variáveis genótípicas.....	106
Tabela 35. Fatores associados à VEF ₁ /CVF menor que 70% entre pacientes participantes do estudo.	113

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

BOLD	Burden of Obstructive Lung Disease
CAT	COPD Assessment Test
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CHRNA	Subunidade alfa nicotínica do receptor colinérgico
CHRNA3	Subunidade alfa 3 nicotínica do receptor colinérgico
CHRNA5	Subunidade alfa 5 nicotínica do receptor colinérgico
CI	Corticóide inalatório
CO	Monóxido de carbono
COex	Monóxido de carbono exalado
COHb	Carboxihemoglobina
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde
CPD	Consumo de cigarros por dia
CVF	Capacidade vital forçada
CYP2A6	Membro 6 da subfamília A da família 2 do citocromo P450
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
ERK	Quinases reguladas por sinal extracelular
FAM13A	Família com semelhança de sequência 13 membro A
FTND	Teste de dependência de nicotína de Fagerström
FTQ	Questionário de tolerância de Fagerström
GATS	Pesquisa Global de Tabaco para Adultos
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
GSTCP	Domínio C-terminal de glutathione S-transferase
Hb	Hemoglobina
HHIP	Proteína que interage com hedgehog
HIS	Índice de fumo pesado
HTR4	Receptor 4 de 5-hidroxitriptamina
IDH	Índice de desenvolvimento humano

IL27	Interleucina 27
INCA	Instituto Nacional de Câncer
Kbp	Kilo pares de base
LABA	Beta agonistas de longa duração
LAMA	Antagonistas muscarínicos de longa duração
mMRC	Modified Medical Research Council
NA	Não se aplica
OMS	Organização Mundial da Saúde
Pb	Pares de base
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PETab	Pesquisa Especial sobre Tabagismo
PLATINO	Projeto Latino-Americano de Investigação em Obstrução Pulmonar
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
PP2A	Fosfatase 2A
RIN3	Interator 3 de Ras e Rab
SBPT	Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGFB2	Fator transformador de crescimento beta 2
VEF₁	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
VEF₁/CVF	Relação volume expiratório forçado no primeiro segundo / capacidade vital forçada
≥	Maior ou igual

Resumo

Câmara ICSM. *Suscetibilidade genética ao tabagismo e doença pulmonar obstrutiva crônica: prevalência e relação com medida de monóxido de carbono exalado* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução: A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é um grave problema de saúde, apresentando alta morbimortalidade. Caracteriza-se pela presença de sintomas respiratórios e limitação do fluxo aéreo. O desenvolvimento da DPOC está relacionado à exposição a partículas nocivas e gases tóxicos, sendo o cigarro o principal fator de risco. A dependência e intensidade do tabagismo estão relacionadas com a presença de polimorfismos em genes que codificam enzimas metabolizadoras de nicotina (*CYP2A6*), proteínas de sinalização intracelular (*FAM13A*) e receptores nicotínicos (*CHRNA*). **Objetivos:** 1- Comparar a prevalência de polimorfismos de *CYP2A6*, *CHRNA* e *FAM13A* entre pacientes tabagistas com DPOC, tabagistas sem DPOC e não tabagistas. 2- Avaliar se portadores de DPOC com genótipo mutado (heterozigoto ou homozigoto) têm maior dificuldade em cessar o tabagismo, maior carga tabágica ou tendência de subestimar e negligenciar o hábito tabágico para profissionais de saúde responsáveis pelo seu atendimento. **Métodos:** Seleção de pacientes do grupo DPOC, tabagistas sem DPOC e não tabagistas. Coleta de sangue para genotipagem das variantes *CYP2A6**1B, *2 e *5 por Nested PCR, e genotipagem dos polimorfismos rs1051730 e rs6495309 (*CHRNA3*), rs16969968 (*CHRNA5*) e rs7671167 (*FAM13A*) por PCR real-time. Medida de monóxido de carbono exalado (COex) para verificar status de fumar. **Resultados:** No grupo de pacientes portadores de DPOC foi encontrada uma proporção alta (>10%) de homozigotos para as variantes *CHRNA5* rs16969968, *CHRNA3* rs1051730, *FAM13A* rs7671167 e *CYP2A6**1B, assim como no grupo de pacientes Tabagistas, exceto pela variante *CYP2A6**1B. Foi observada uma diferença significativa na comparação entre grupos para os polimorfismos de *CHRNA5* rs16969968 e *CHRNA3* rs1051730, sendo que as demais comparações foram similares do ponto de vista estatístico. 94,6% dos declarados fumantes atuais tiveram a medida de COex ≥ 6 ppm, o que é condizente com a sensibilidade do método. Já nos pacientes autodeclarados ex-tabagistas, 24,6% apresentou medida de COex ≥ 6 ppm, mostrando que nesse grupo existe uma proporção relevante de classificação equivocada quando utilizado o tabagismo autodeclarado. Nenhuma variante, isoladamente, foi relacionada à COex ≥ 6 ppm juntamente com autodeclaração de não tabagismo. Além disso, observamos que em pacientes portadores de DPOC o escore de mutações foi, em média maior, que nos tabagistas sem DPOC. **Conclusão:** Mutações nos genes estudados têm impacto sobre a evolução da DPOC e a transparência do paciente em relação ao tabagismo junto à equipe assistencial. Pacientes ainda omitem e negligenciam o tabagismo, impactando na capacidade dos profissionais de saúde em oferecer tratamento. Ao realizarmos o escore de mutações, onde vários polimorfismos são avaliados em conjunto, é possível observar que

pacientes com maior pontuação no escore apresentam pior desempenho de função pulmonar e mais diagnóstico de DPOC.

Descritores: Doença pulmonar obstrutiva crônica; Citocromo P-450 CYP2A6; Polimorfismo de Nucleotídeo Único; Gene *CHRNA*; Gene *FAM13A*; Tabagismo.

Abstract

Câmara ICSM. *Genetic susceptibility to smoking and chronic obstructive pulmonary disease: prevalence and relationship with exhaled carbon monoxide measurement* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

Background: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is one of the most serious health problems worldwide, presenting high morbidity and mortality. It is characterized by the presence of respiratory symptoms and airflow limitation. The development of COPD is related to exposure to harmful particles and toxic gases, with cigarettes being the main risk factor. The dependence and intensity of smoking are related to the presence of polymorphisms in genes that encode nicotine metabolizing enzymes (*CYP2A6*), intracellular signaling proteins (*FAM13A*) and nicotinic receptors (*CHRNA*).

Aims: 1) Compare the prevalence of *CYP2A6*, *CHRNA* and *FAM13A* polymorphisms among smokers with COPD, smokers without COPD and non-smokers. 2) Evaluate whether COPD patients with mutated genotype (heterozygous or homozygous) have greater difficulty in smoking cessation, greater smoking burden or tendency to underestimate and neglect the smoking habit for healthcare professionals responsible for their care.

Methods: 1) Selection of patients in the COPD group, smokers without COPD and non-smokers. Blood collection for genotyping of variants *CYP2A6**1B,*2 and *5 variants by Nested PCR and genotyping of the polymorphisms rs1051730 and rs6495309 (*CHRNA3*), rs16969968 (*CHRNA5*) and rs7671167 (*FAM13A*) by real-time PCR. Exhaled carbon monoxide (COex) measure to check smoking status.

Results: A high proportion (>10%) of patients with COPD were homozygous for the *CHRNA5* rs16969968, *CHRNA3* rs1051730, *FAM13A* rs7671167 and *CYP2A6**1B variants, as well as in the group of Smokers, except for the *CYP2A6**1B variant. A significant difference was observed in the comparison between groups for the polymorphisms of *CHRNA5* rs16969968 and *CHRNA3* rs1051730, and the other comparisons were similar from a statistical point of view. 94.6% of declared current smokers had COex measurement ≥ 6 ppm, which is consistent with the sensitivity of the method. In the self-reported former smokers, 24.6% had an COex measurement of ≥ 6 ppm, showing that in this group there is a relevant proportion of misclassification when self-reported smoking is used. No single variant was related to COex ≥ 6 ppm together with self-declaration of non-smoking. In addition, we observed that in patients with COPD, the mutation score was, on average, higher than in smokers without COPD.

Conclusion: Mutations in the genes studied have an impact on the evolution of COPD and the patient's transparency in relation to smoking with the care team. Patients still omit and neglect smoking, impacting the ability of health professionals to provide treatment. When performing the mutation score, where several polymorphisms are evaluated together, it is possible to observe that patients with higher scores

on the score present worse performance of lung function and more diagnosis of COPD.

Descriptors: Chronic obstructive pulmonary disease; Cytochrome P-450 CYP2A6; Polymorphism, Single Nucleotide; *CHRNA* gene; *FAM13A* gene; Tobacco Use Disorder.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Em 1977, Fletcher e Peto relataram, através de suas observações seminais em trabalhadores de Londres, a história natural da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC). Nos estudos clássicos realizados pela dupla foi definido que a DPOC tem o tabagismo como sua principal causa e agente de progressão (1, 2).

O conceito clássico era que, em pessoas suscetíveis, o tabagismo provocava uma resposta inflamatória. Esta inflamação era responsável por danificar vias aéreas, ocasionando bronquite ou bronquiolite, levando à destruição parenquimatosa e desenvolvimento de enfisema, com acelerado declínio fisiológico da função pulmonar (1-3).

Como consequência deste processo inflamatório, era observado uma limitação do fluxo aéreo e sintomas respiratórios crônicos irreversíveis, que poderiam piorar agudamente durante episódios de exacerbações (1, 2).

Em 1997, foi lançada a Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD), com a colaboração da National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health, EUA e a Organização Mundial da Saúde (OMS). A iniciativa GOLD elabora documentos e material educacional para difundir as condutas no diagnóstico e tratamento da DPOC baseado na melhor evidência científica disponível (4).

O principal objetivo da iniciativa GOLD é determinar diretrizes para o tratamento da DPOC, que são estabelecidos por comitês formados pelos principais especialistas em doenças pulmonares de todo o mundo (4).

A estratégia global da GOLD para diagnóstico, gestão e prevenção da DPOC é apresentada através de documentos oficiais disponibilizados no site da organização. Os principais objetivos da iniciativa GOLD são:

- Recomendar estratégias eficazes de gestão e prevenção da DPOC para uso em todos os países;
- Aumentar a conscientização da comunidade médica, das autoridades de saúde pública e do público em geral de que a DPOC é um problema de saúde pública;
- Diminuir a morbidade e mortalidade por DPOC através da implementação e avaliação de programas eficazes de diagnóstico e gestão;
- Promover o estudo das razões para o aumento da prevalência da DPOC, incluindo a relação com o meio ambiente;
- Implementar programas eficazes para prevenir a DPOC.

Segundo o documento lançado pela iniciativa GOLD no ano de 2021, a DPOC é definida como uma doença comum, evitável e tratável, caracterizada pela presença de sintomas respiratórios e limitação do fluxo aéreo, devido a anormalidades nas vias aéreas e/ou alvéolos, causadas por exposição significativa a gases e partículas tóxicas (**Figura 1**). O documento acrescenta ainda que os sintomas respiratórios mais frequentes incluem dispneia, tosse e produção de escarro (5).

Segundo documento publicado em junho de 2021, pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (CONITEC), a doença pulmonar obstrutiva crônica é descrita como doença caracterizada pela limitação crônica ao fluxo aéreo, não totalmente reversível,

associada a uma resposta inflamatória anormal à inalação de partículas ou gases nocivos. Do ponto de vista fisiopatológico, a obstrução crônica do fluxo aéreo ocorre por conta da associação de inflamação nas pequenas vias aéreas, conhecida como bronquiolite respiratória e destruição parenquimatosa, chamada de enfisema. Os sintomas da DPOC caracterizam-se por serem persistentes, piorar com exercício, e apresentam tendência de aumento em frequência e intensidade ao longo do tempo, com episódios de agravamento que duram geralmente alguns dias, conhecidos como exacerbações (6).

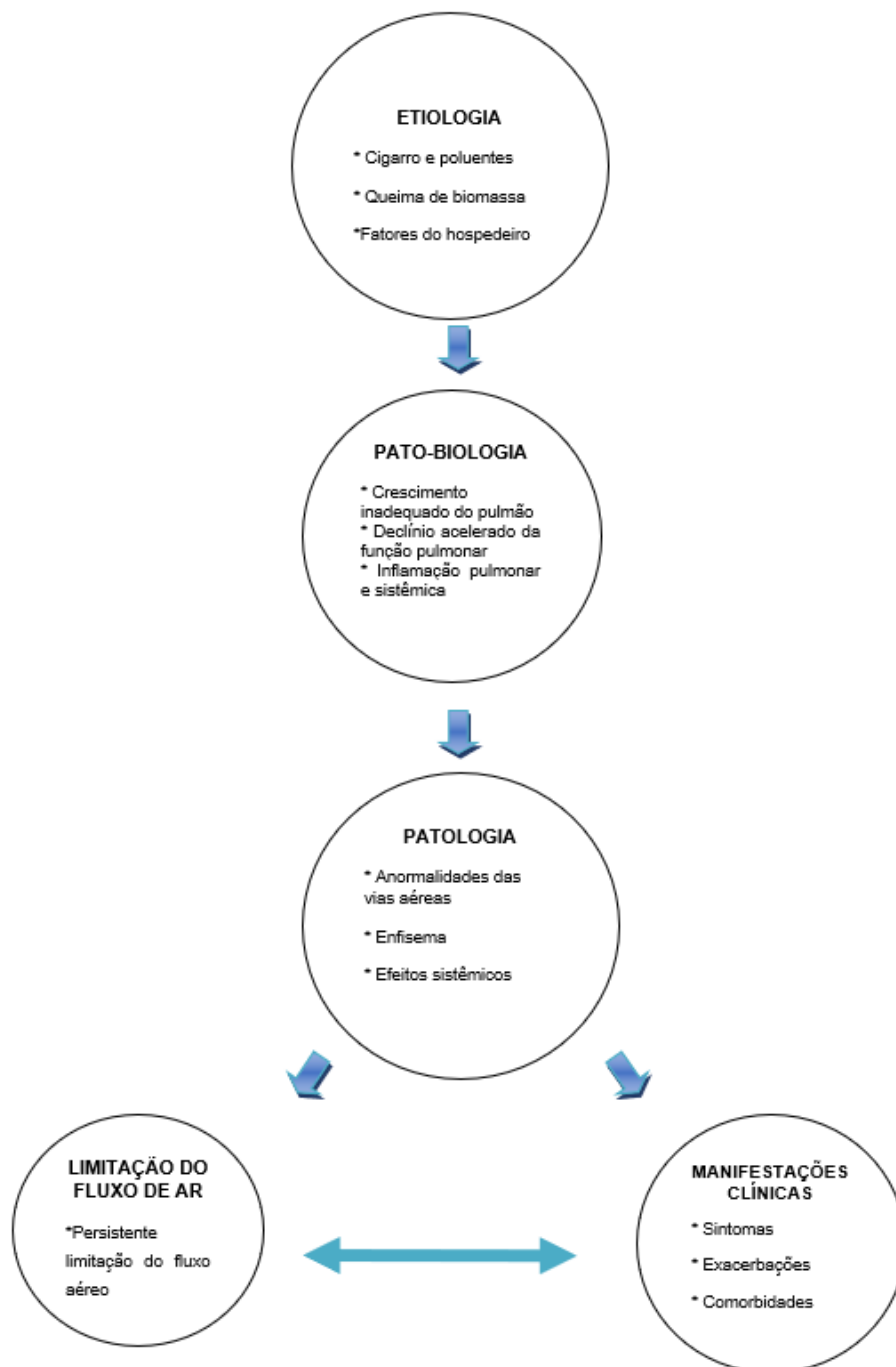


Figura 1. Etiologia, patobiologia e patologia da DPOC. Fonte: Adaptado de GOLD (2022).

No ano de 2001 a Associação Latino-Americana de Tórax (ALAT) decidiu realizar uma pesquisa multicêntrica para auxiliar no preenchimento de lacunas de informações sobre a prevalência e fatores de risco para a DPOC na região. Inicialmente, cinco grandes cidades de diferentes regiões seriam

incluídas: São Paulo, Santiago, Cidade do México, Bogotá e Buenos Aires. Posteriormente, devido à forte interesse em participar do estudo, foram incluídas as cidades de Caracas e Montevideo. A este grande estudo deu-se o nome de Projeto Latino Americano para a Investigação de Doença Pulmonar Obstrutiva (PLATINO) (7).

Ao mesmo tempo em que estava sendo criado o PLATINO, outro grupo de pesquisadores estava desenvolvendo um protocolo semelhante – a pesquisa Burden of Obstructive Lung Disease (BOLD), que seria realizada na China, Estados Unidos e outros locais. Houve então um acordo, onde as equipes PLATINO e BOLD trabalhariam juntas no protocolo, visando garantir a padronização de métodos que pudessem estimar a prevalência da DPOC e obter informações sobre fatores de risco. Foram definidas também abordagens metodológicas básicas e instrumentos de coleta de dados que fossem comparáveis para ambos os estudos (5, 7, 8).

Segundo o BOLD, estimava-se que o número de casos de DPOC em 2010 era de 384 milhões, com uma prevalência global de 11,7%. Anualmente, ao redor do mundo, três milhões de indivíduos morrem por DPOC. Com o aumento da prevalência do tabagismo em países em desenvolvimento, acompanhado do envelhecimento da população em países de alta renda, espera-se que a prevalência de DPOC aumente nos próximos 40 anos. A estimativa é que em 2060 possa haver mais de 5,4 milhões de mortes/ano por DPOC e condições relacionadas à doença (5).

Segundo o estudo PLATINO, foi avaliada a prevalência de limitação do fluxo aéreo pós-broncodilatador entre pessoas acima de 40 anos, na maior cidade destes cinco países – Brasil, Chile, México, Uruguai e

Venezuela. Em cada país a prevalência de DPOC aumentou drasticamente com a idade, com a maior prevalência sendo entre pessoas acima de 60 anos. A prevalência na população total variou de 7,8% na Cidade do México até 19,7% em Montevideo. Além disso, em todas as cinco cidades estudadas, a prevalência da DPOC foi maior em homens do que em mulheres, quando em comparação com cidades da Europa, por exemplo (5).

Ainda segundo o estudo PLATINO, na cidade de São Paulo, uma das grandes cidades analisadas, a prevalência de critérios espirométricos para DPOC em adultos com mais de 40 anos foi de 15,8%. Foi observado também que somente 12,5% dos pacientes com espirometria compatível com DPOC tinham um diagnóstico clínico da doença bem estabelecido, apesar de apresentarem sintomas bem definidos (9).

A baixa utilização da espirometria como diagnóstico da doença é um dos principais fatores associados ao subdiagnóstico. Além disso, foi constatado também que 83,3% dos indivíduos com critérios espirométricos para DPOC não estavam sob qualquer tratamento farmacológico. Além disso, 47,3% não foram aconselhados a cessar o tabagismo e 72,4% não tomaram a vacina antigripal. Esses dados mostram o quanto a DPOC é subdiagnosticada e os principais pilares do tratamento não são contemplados (9).

Todos estes achados indicam que a DPOC ainda é uma doença subdiagnosticada e inadequadamente tratada, que leva a graves consequências de morbidade e mortalidade para os pacientes, bem como grande impacto socioeconômico no setor de saúde pública (9).

1.1.2 Dados epidemiológicos da DPOC no mundo e no Brasil

No ano de 2019, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou quais foram as 10 principais causas de morte, que foram responsáveis por 55% das 55,4 milhões de mortes em todo o mundo (10).

As principais causas globais de morte, em ordem de número total de vidas perdidas, estão associadas a três grandes grupos: cardiovascular (doença isquêmica do coração, acidente vascular cerebral), respiratório (doença pulmonar obstrutiva crônica, infecções respiratórias inferiores) e condições neonatais (10).

Sete das dez principais causas de morte no mundo em 2019 ocorreram por doenças não transmissíveis. Essas sete causas foram responsáveis por 44% de todas as mortes ou 80% das dez principais. No entanto, todas as doenças não transmissíveis juntas foram responsáveis por 74% das mortes em todo o mundo em 2019. A DPOC foi a terceira principal causa de morte no ano de 2019, responsável por aproximadamente 6% do número total de mortes (**Figura 2**) (10).

Entretanto, segundo a GOLD, a OMS publica dados estatísticos sobre mortalidade para as causas selecionadas de morte, anualmente, para todas as regiões da OMS. Os dados devem ser interpretados com cautela em decorrência da terminologia inconsistente usada para DPOC. Na décima revisão da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde (CID-10), as mortes por DPOC ou obstrução por

fluxo aéreo são incluídas na larga categoria de "DPOC e condições aliadas" (CID-10 códigos J42-J46) (5).

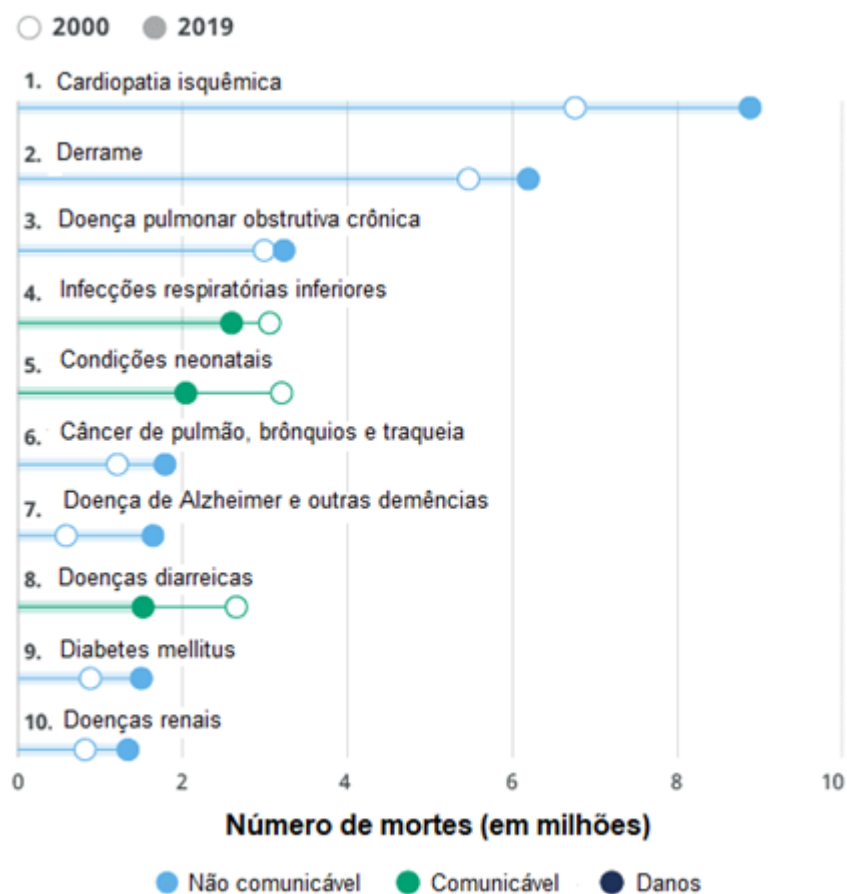


Figura 2. Principais causas de morte no mundo, de acordo com a OMS. Fonte: WHO. The top 10 causes of death (2020).

Ainda segundo a OMS, as mortes por DPOC são infrequentes em países de baixa renda em comparação com outros grupos de renda. Ele não aparece nas 10 principais causas de morte para países de baixa renda, mas está entre as 5 principais para todos os outros grupos de renda, como mostra a figura 3.

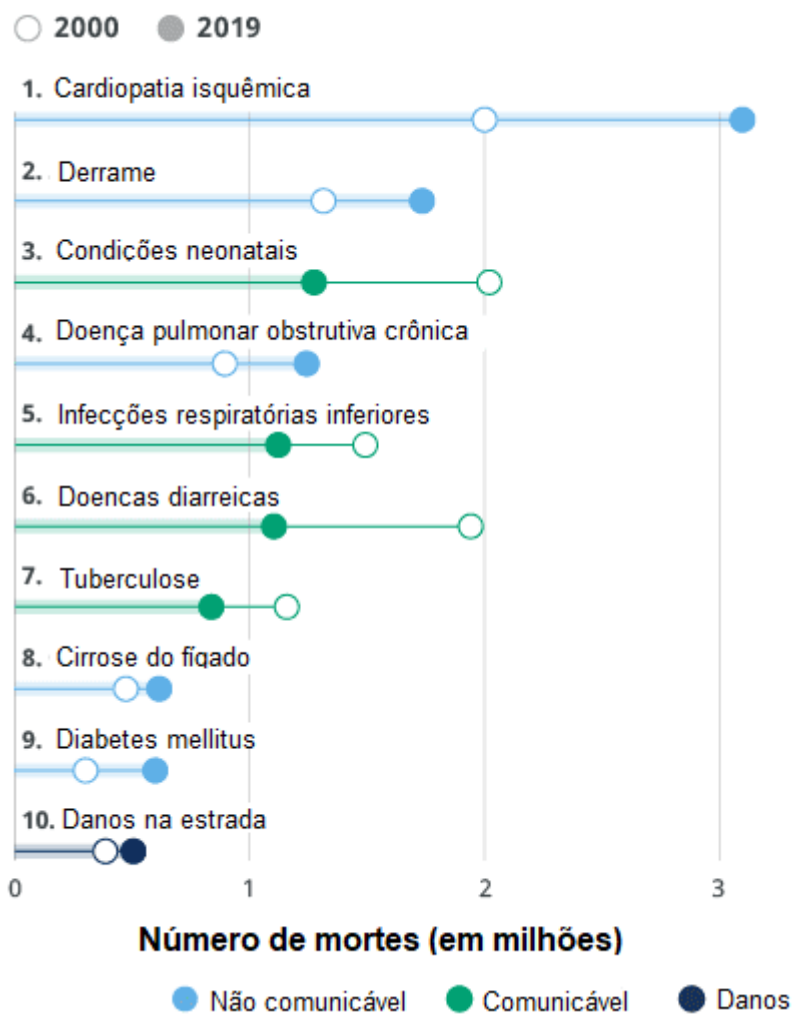


Figura 3. Principais causas de morte em países de média-baixa renda, de acordo com a OMS. Fonte: WHO. The top 10 causes of death (2020).

No Brasil, entre 2000 a 2006 e entre 2015 a 2016, a DPOC foi a quarta principal causa de morte e entre 2007 a 2014, a quinta principal causa de morte (**Figura 4**) (11).

Segundo a Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (SBPT), a real prevalência da DPOC no Brasil não é conhecida. Os dados publicados no II Consenso Brasileiro sobre Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica – DPOC, em 2004 são de questionários de sintomas, que estimavam que a DPOC em

adultos maiores de 40 anos atingia 12% da população, ou seja, 5.500.000 indivíduos (12).

Considerando dados do estudo PLATINO, na cidade de São Paulo, a prevalência da DPOC varia de 6 a 15,8% da população com idade igual ou superior a 40 anos, onde estes percentuais equivalem de 2.800.000 a 6.900.000 indivíduos com a doença (12).

Com relação à morbidade, em 2003, a DPOC foi a quinta maior causa de internamento no sistema público de saúde do Brasil, em indivíduos com mais de 40 anos, totalizando 196.698 internações e um gasto aproximado de 72 milhões de reais (12).

Ainda neste documento da SBPT, com relação à mortalidade, observou-se um aumento do número de óbitos por DPOC, em ambos os sexos, onde a taxa de mortalidade passou de 7,88 a cada 100.000 habitantes em 1980, para 19,04 a cada 100.000 habitantes na década de 1990, totalizando um crescimento de 340% (12).

Dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS) informam que em 2010 a DPOC foi responsável por 141.994 hospitalizações, que totalizaram 778.428 dias de internação e 7.937 mortes diretamente associadas à doença. Com relação ao impacto econômico, os gastos com as internações foram de R\$ 92,4 milhões (13).

Todos estes achados indicam que a DPOC ainda é uma doença subdiagnosticada e inadequadamente tratada, que leva a graves consequências de morbidade e mortalidade para os pacientes, bem como grande impacto socioeconômico no setor de saúde pública (9).

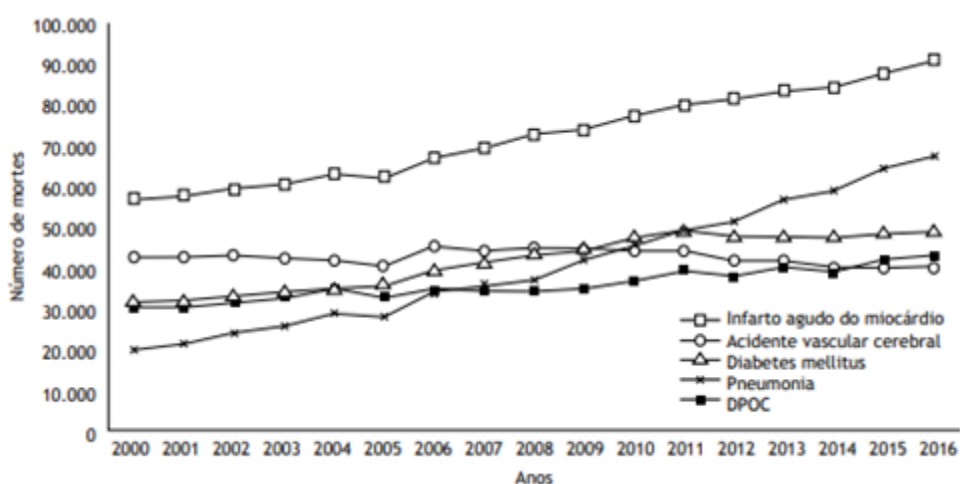


Figura 4. Tendências das causas básicas de morte, de acordo com a Classificação Internacional de Doenças (CID), 2000-2016. Fonte: Gonçalves-Macedo (2019).

Com relação ao impacto econômico global da DPOC, a GOLD cita que na União Europeia, por exemplo, os custos totais diretos com doenças respiratórias são estimados em aproximadamente 6% dos gastos com saúde, sendo que destes, 56% são gastos com DPOC (cerca de 38 bilhões de euros por ano). Já nos Estados Unidos da América (EUA) estima-se que os gastos diretos com a doença são de 32 bilhões de dólares, e os indiretos fiquem em torno de 20,4 bilhões de dólares (5).

1.1.3 Diagnóstico da DPOC

De acordo com as diretrizes do GOLD, a DPOC deveria ser considerada em qualquer paciente que apresente dispneia, tosse crônica ou produção de escarro e/ou histórico de exposição a fatores de risco para a doença (**Figura 5 e Tabela 1**) (5).



Figura 5. Caminhos para o diagnóstico da DPOC. Fonte: GOLD (2022).

Tabela 1. Indicadores chave para considerar um diagnóstico de DPOC. Fonte: Adaptado de GOLD (2022).

<p>Dispneia</p>	<ul style="list-style-type: none"> * Progressiva ao longo do tempo * Caracteristicamente pior com exercício * Persistente
<p>Tosse crônica</p>	<ul style="list-style-type: none"> * Pode ser intermitente e produtiva * Chiado recorrente
<p>Produção crônica de escarro</p>	<ul style="list-style-type: none"> * Qualquer padrão de produção crônica de escarro pode indicar DPOC
<p>Infecção recorrente do trato respiratório inferior</p>	
<p>Histórico de fatores de risco</p>	<ul style="list-style-type: none"> * Fatores do hospedeiro (fatores genéticos, anormalidades congênitas/desenvolvimento) * Fumo de tabaco (incluindo costumes populares locais) * Fumaça dos combustíveis domésticos e de aquecimento * Poeiras, vapores, fumos, gases e outros produtos químicos ocupacionais
<p>Histórico familiar de DPOC e/ou fatores da infância</p>	<p>Baixo peso ao nascimento, prematuridade, exposição a fumaça de cigarro ou biomassa durante a infância e infecções respiratórias da infância</p>

Segundo o relatório de recomendação – Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas da Conitec, publicado em Junho/2021, a DPOC deve ser investigada em pacientes fumantes, ex-fumantes ou com histórico de exposição ocupacional ou ambiental a agentes considerados nocivos (forno a lenha ou sílica, por exemplo), acima de 40 anos e com sintomas respiratórios crônicos (tosse, chiado, dispneia e expectoração). Cianose e hiperinsuflação pulmonar indicam existência de DPOC em grau avançado (6).

O diagnóstico é realizado não somente através da presença de sintomas respiratórios e dos fatores de risco, mas também com a realização da espirometria com broncodilatador (BD), exame onde é avaliada a função pulmonar. O diagnóstico de DPOC é condicionado ao achado de distúrbio ventilatório obstrutivo não completamente reversível (6).

O diagnóstico da obstrução através da espirometria baseia-se na relação entre volume expiratório forçado no primeiro segundo e capacidade vital forçada (VEF_1/CVF), onde são considerados anormais valores inferiores a 0,7 (6).

Além disso, há também a classificação da gravidade da limitação do fluxo aéreo que pode ser leve, moderada, grave ou muito grave (GOLD I, II, III e IV, respectivamente), de acordo com a redução do VEF_1 pós BD. O exame deve ser realizado após administração de uma dose adequada de broncodilatador inalatório de curta duração, visando reduzir a variabilidade **(tabela 2)** (5, 6).

Tabela 2. Classificação da gravidade de limitação do fluxo aéreo na DPOC. Fonte: Adaptado de Ministério de Saúde (2021).

Estágio	Espirometria VEF ₁ /CVF inferior a 70%
GOLD I (obstrução leve)	VEF ₁ ≥ 80% do previsto
GOLD II (obstrução moderada)	50% ≤ VEF ₁ < 80% do previsto
GOLD III (obstrução grave)	30% ≤ VEF ₁ < 50% do previsto
GOLD IV (obstrução muito grave)	VEF ₁ < 30% do previsto

Legenda: CVF, capacidade vital forçada; VEF₁, volume expiratório forçado em 1 segundo.

Além do diagnóstico através da espirometria, existem dois questionários que devem ser aplicados nos pacientes, para avaliar a intensidade dos sintomas, e assim, definir uma melhor estratégia terapêutica e de monitorização clínica (5, 6).

Há um questionário que avalia a escala de dispneia (mMRC - modified Medical Research Council), ou escala de dispneia modificada do Conselho de Pesquisa Médica, onde o paciente classifica o quanto sua dispneia afeta as atividades do dia a dia, como trocar de roupa, sair de casa ou subir uma subida (**Tabela 3**) (14).

Tabela 3. Escala de dispneia MRC modificada. Fonte: Adaptado de GOLD, 2022.

Por favor, marque no quadrado o que se aplica a você | Apenas um quadrado | Graus 0-4

<input type="checkbox"/>	mMRC Grau 0	Eu apenas tenho falta de ar com exercício extenuante
<input type="checkbox"/>	mMRC Grau 1	Eu fico com falta de ar quando corro no plano ou subo uma pequena subida
<input type="checkbox"/>	mMRC Grau 2	Eu ando mais devagar do que pessoas da mesma idade no plano por causa da falta de ar ou tenho que parar para respirar ao andar no meu próprio ritmo no plano
<input type="checkbox"/>	mMRC Grau 3	Eu paro para respirar após andar aproximadamente 100 metros ou depois de alguns minutos no plano
<input type="checkbox"/>	mMRC Grau 4	Estou sem fôlego para sair de casa ou estou sem fôlego ao me vestir ou despir

Já o COPD Assessment Test (CAT) consiste em um instrumento simples para avaliar o quanto os sintomas impactam na vida do paciente portador de DPOC (15).

O CAT é composto de oito itens (tosse, catarro, aperto no peito, falta de ar, limitações nas atividades de casa, confiança em sair de casa, sono e energia). Para cada um destes itens, o paciente escolhe apenas uma opção de resposta, cuja pontuação varia de zero a cinco, onde zero indicam ausência do sintoma, e cinco, maior intensidade de sintoma. Ao final do teste, a pontuação das respostas é somada, de modo que é possível avaliar o impacto da DPOC da vida do indivíduo. Os resultados variam de acordo com a faixa dos escores obtidos, avaliados da seguinte forma em relação ao impacto clínico: 6-10 pontos, leve; 11-20, moderado; 21-30, grave; e 31-40, muito grave (**Anexo 8.4**). (15).

A compreensão do impacto da DPOC em um paciente individual combina a classificação espirométrica do paciente com avaliação de sintomas e risco de exacerbações. Para isso foi criada a ferramenta de avaliação “ABCD”. No atual esquema de avaliação, os pacientes devem realizar espirometria para determinar a gravidade da limitação do fluxo aéreo. Eles também devem ser submetidos a avaliação de dispneia usando mMRC ou avaliação de sintomas usando CAT. Finalmente, sua história de exacerbações moderadas e graves (incluindo hospitalizações anteriores) deve ser registrada (5).

Esta avaliação fornece informações sobre a gravidade da limitação do fluxo aéreo (grau espirométrico 1 a 4), enquanto a letra (grupos A a D) fornece informações sobre a carga de sintomas e risco de exacerbação, que podem ser usadas para orientar a terapia naquele paciente **(Figura 6)** (5).

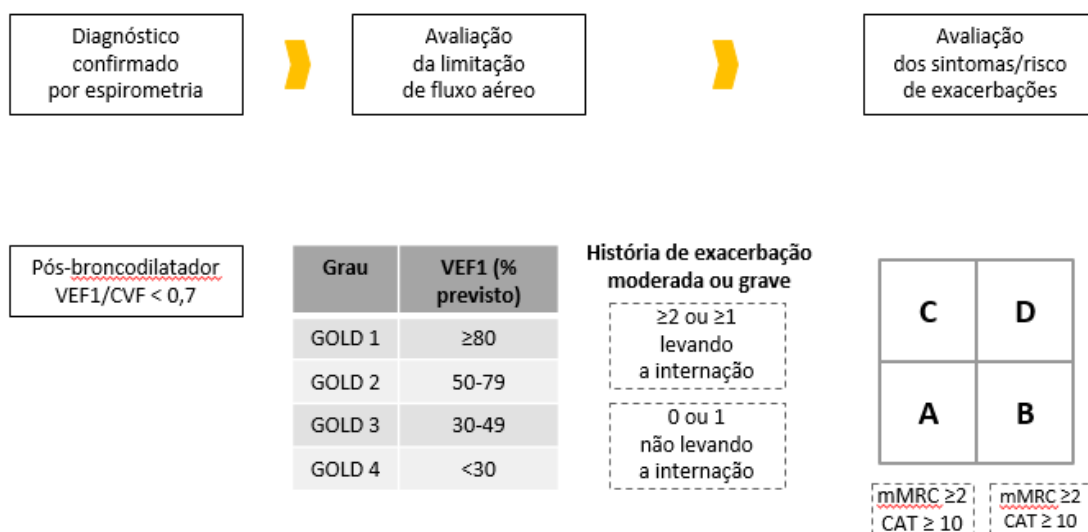


Figura 6. A refinada ferramenta de avaliação ABCD. Fonte: Adaptado de (GOLD, 2022).

1.2 Predisposição genética ao tabagismo

1.2.1 Prevalência do tabagismo no mundo e no Brasil

Segundo o Atlas do Tabaco, globalmente, são 942 milhões de homens e 175 milhões de mulheres com 15 anos ou mais que são fumantes atuais. Quase três quartos dos indivíduos do sexo masculino são fumantes diários que vivem em países com médio ou alto índice de desenvolvimento humano (IDH), enquanto metade das mulheres que fumam diariamente vivem em países com IDH muito alto (16).

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2013, haviam 1.1 bilhão de fumantes em todo o mundo, totalizando 21% da população mundial – 950 milhões de homens e 177 milhões de mulheres. Além disso, em 2011, o tabagismo foi responsável pela morte de quase seis milhões de pessoas (17).

A OMS aponta que o tabaco é responsável pela morte de mais de 8 milhões de pessoas por ano, ao redor do mundo. Deste total, 7 milhões ocorrem em decorrência do uso direto do tabaco, enquanto cerca de 1,2 milhão é resultado do acometimento de indivíduos não-fumantes que são expostos ao fumo passivo. A OMS afirma ainda que cerca de 80% dos mais de um bilhão de fumantes do mundo vivem em países de baixa e média renda, onde as doenças e mortes relacionadas ao tabaco são maiores (18).

Atualmente, o tabagismo é a forma mais comum de uso do tabaco em todo o mundo. Entretanto, o uso de outros produtos do tabaco, como narguilé, charutos, bidis e kreteks, por exemplo, também são prejudiciais. Sendo assim, todas as formas de uso do tabaco são nocivas, não havendo um nível seguro de exposição ao mesmo (18).

Ainda segundo a OMS, mais de 80%, dos 1,3 bilhão de usuários de tabaco em todo o mundo, vivem em países de baixa e média renda, onde a carga de doenças e mortes relacionadas ao tabaco é maior. O uso do tabaco contribui para a pobreza, uma vez que os gastos das necessidades básicas (como alimentação ou moradia) das famílias são desviados para o uso do tabaco (18).

De acordo com as estimativas da OMS, se as tendências atuais continuarem, até 2030, oito milhões de pessoas morrerão anualmente em decorrência de doenças associadas ao tabagismo, tornando essa dependência uma das maiores causas de mortalidade no mundo (19).

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), classifica o tabagismo como a principal causa de morte evitável nos Estados Unidos,

sendo responsável pela morte de mais de 480.000 pessoas, totalizando quase uma em cada cinco mortes no país (20).

Fumar causa cerca de 90% (ou 9 em cada 10) de todas as mortes por câncer de pulmão e 80% (ou 8 em cada 10) de todas as mortes por DPOC nos EUA (20).

Infelizmente, em alguns países em desenvolvimento, as taxas de tabagismo estão aumentando e ainda permanecem altas em muitos países desenvolvidos, apesar da conscientização do público quanto aos riscos à saúde e aos esforços de saúde pública que foram feitos para reduzir o consumo de cigarros. A estimativa é que os fumantes atuais consumam aproximadamente seis trilhões de cigarros todos os anos (21, 22).

Na tabela 4 podemos observar uma análise feita pela OMS, onde é indicado que a região global que apresenta maior percentual de tabaco fumado é a Europa, e a região com menor percentual é a África. As Américas, da qual faz parte o Brasil, apresenta 18,7% de fumantes atuais. Nesta tabela também podemos observar que para todas as regiões do mundo, o percentual de tabaco fumado é sempre maior entre os homens, quando em comparação às mulheres (22).

Tabela 4. Prevalência de fumantes atuais de tabaco fumado (%), por região, segundo a OMS, no ano de 2010. Fonte: INCA (2022).

Região	Total	Masculino	Feminino
África	12,4	22,2	2,7
Américas	18,7	23,6	14,1
Mediterrâneo Oriental	20,2	36,3	3,4
Europa	29,0	39,4	19,6
Sudeste da Ásia	18,1	32,8	2,9
Pacífico Ocidental	26,6	49,1	3,5
Global	22,1	36,9	7,4

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), a prevalência de tabagismo é o resultado da iniciação, ou seja, dos novos usuários de tabaco, e da interrupção do consumo, seja através da cessação do tabagismo ou morte. O Brasil possui um amplo sistema de pesquisa e vigilância, onde é possível calcular estimativas nacionais e regionais sobre o uso do tabaco, exposição ambiental à sua fumaça, cessação, exposição à propaganda pró e antitabaco, conhecimentos e atitudes, preço médio e gasto médio mensal com cigarros industrializados, dentre outras informações (22).

Além de todo o monitoramento epidemiológico do tabagismo, o Brasil também dispõe da implantação de políticas públicas para enfrentar o consumo de tabaco. Programas como Vigilância de Tabagismo em Escolares (Vigescola) foram implementados, visando criar a conscientização na população de estudantes na faixa etária de 13 a 15 anos em escolas públicas e privadas de capitais brasileiras. Além disso, o Brasil passou a fazer parte em 2008 da Pesquisa Global de Tabaco para Adultos (GATS), onde é possível calcular a

prevalência do uso de tabaco além de implementar políticas de cessação do tabagismo (22, 23).

Segundo o INCA, o percentual de adultos fumantes no Brasil vem apresentando queda expressiva nas últimas décadas, em decorrência das ações desenvolvidas pela Programa Nacional de Controle do Tabagismo (PNCT). Em 1989, 34,8% da população brasileira acima de 18 anos era fumante. Uma queda expressiva foi observada em 2003, quando na Pesquisa Mundial de Saúde (PMS) o percentual foi de 22,4%. Em 2008, segundo a Pesquisa Especial sobre Tabagismo (PETab), o percentual caiu para 18,5 %. Dados recentes da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) apontam que no ano de 2019, 12,6% da população brasileira era de adultos fumantes **(Figura 7)** (22).

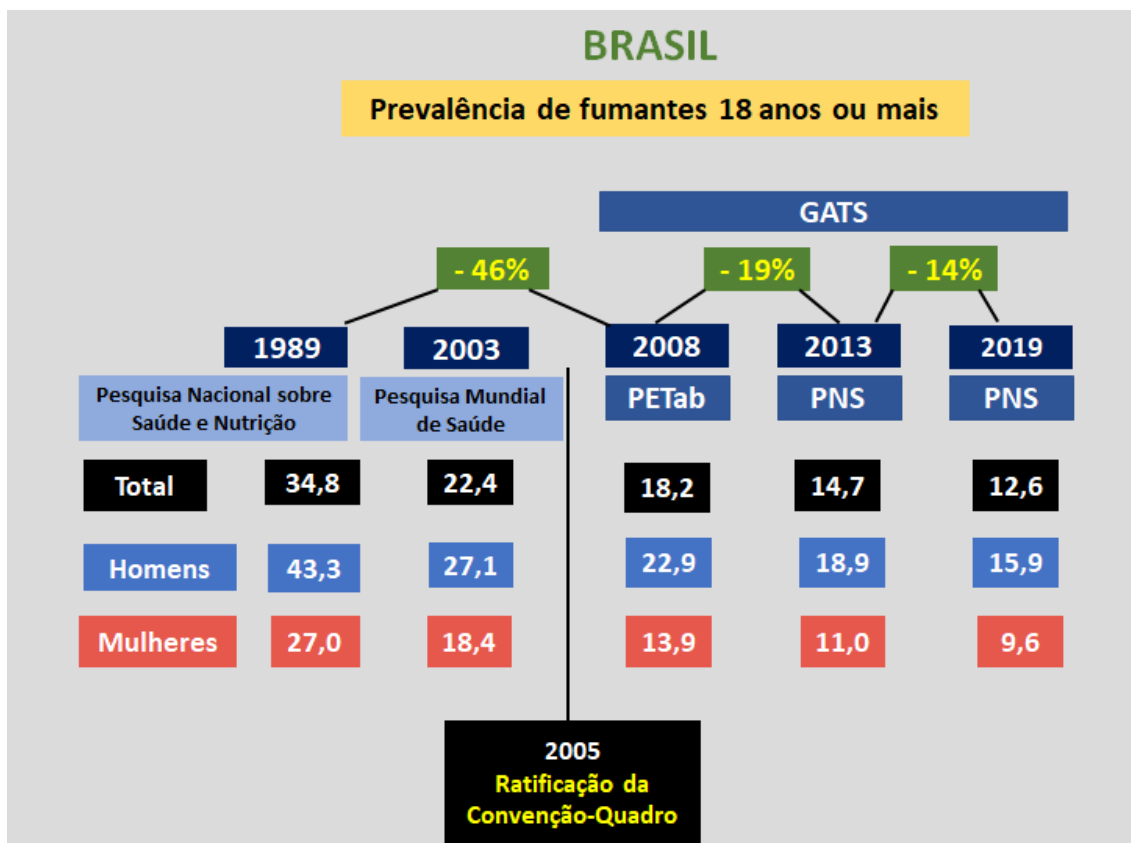


Figura 7. Prevalência de fumantes no Brasil, segundo dados de diferentes políticas de controle do tabagismo. Fonte: INCA (2022).

Levando em consideração o período de 1989 a 2010, houve uma queda de 46% no percentual de fumantes no Brasil, isso em decorrência das Políticas de Controle do Tabagismo implementadas. Através destas pesquisas foi possível estimar que 420.000 mortes foram evitadas durante estes anos (24).

Segundo a última Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), realizada no ano de 2019, a proporção total de fumantes atuais de tabaco com 18 anos ou mais apresentou redução, quando em comparação aos dados de 2013, em todas as regiões do país. Novamente, este quadro demonstra que houve queda dos números em decorrência das ações de combate ao tabagismo, promovidas pelo Governo (Tabela 5). Observando esta mesma tabela é possível ver que

houve queda deste percentual também entre homens e mulheres, em todas as regiões (22).

Tabela 5. Proporção de fumantes atuais de tabaco com 18 anos ou mais (%). Fonte: INCA (2022).

Área de domicílio	Total		Homens		Mulheres	
	PNS 2013	PNS 2019	PNS 2013	PNS 2019	PNS 2013	PNS 2019
Brasil	14,7	12,6	18,9	15,9	11,0	9,6
Urbano	14,4	12,4	18,3	15,6	11,0	9,8
Rural	16,7	13,7	22,4	17,9	10,7	8,9
Norte	13,2	10,5	19,0	15,2	7,8	6,1
Nordeste	14,2	10,8	19,1	14,2	9,9	7,7
Sudeste	15,0	13,3	19,0	16,6	11,5	10,4
Sul	16,1	14,7	19,1	17,0	13,3	12,5
Centro-Oeste	13,4	13,1	16,8	14,1	10,4	10,0

As doenças associadas ao tabagismo no Brasil foram responsáveis por 161.853 no ano de 2020, que representa 443 mortes ao dia e 13% deste total. Ao estratificar estas mortes, é possível dizer que 37.686 ocorreram em pacientes com DPOC e o restante à doenças cardíacas, câncer de pulmão e outros tipos, tabagismo passivo entre outras causas (25).

O tabagismo leva a um gasto estimado de R\$ 125.148 bilhões para a saúde e economia brasileira. Os custos diretos com assistência médica associada ao tabagismo chegam a R\$ 59.280 bilhões, equivalendo a 7,8% dos gastos anuais em saúde, e os custos indiretos chegam R\$ 42.452 bilhões, uma vez que é alto o número de indivíduos que perdem a produtividade por incapacidade ou morte prematura. Os custos indiretos também incluem os familiares ou cuidadores de pessoas que adoecem por causa do tabagismo, totalizando R\$ 32.407 bilhões com estes gastos (22).

O valor arrecadado por impostos sobre o comércio de tabaco foi de R\$ 12.227 bilhões, cobrindo apenas 10% do total que se gasta com doenças associadas ao tabagismo no sistema de único de saúde (22).

1.2.2 Genética do tabagismo

O tabagismo é dado como um importante fator de risco para o desenvolvimento de muitas doenças, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e DPOC. Compreender melhor a etiologia genética do comportamento de fumar tem o potencial de levar a novas intervenções terapêuticas, visando auxiliar na prevenção e cessação do tabagismo (26).

Atualmente, acredita-se que o tabagismo é um comportamento multifatorial complexo, que envolve determinantes genéticos e ambientais. Inicialmente foi sugerido que a influência genética no tabagismo não era importante, entretanto estudos mais recentes indicaram questões significativas na dependência. A influência genética pode ser responsável por 40 a 75% na predisposição para o início do tabagismo, 70 a 80% na manutenção do fumo, 50% no sucesso da interrupção do uso de tabaco e 30 a 50% nos riscos de sintomas de abstinência (27, 28).

Evidências de estudos com gêmeos indicaram alta herdabilidade (40-70%) para vários aspectos do tabagismo como iniciação, dependência, carga tabágica e cessação (29).

A nicotina é um alcalóide considerado uma droga extremamente poderosa. Essa substância é capaz de estimular o SNC e também aumentar a frequência cardíaca e pressão sanguínea. Quando o cigarro é aceso, após ser depositada no pulmão, a nicotina é absorvida rapidamente, chegando ao

cérebro dentro de 10 a 20 segundos. Cada cigarro fornece 1 a 2 mg de nicotina (30, 31).

A nicotina, o principal componente psicoativo do tabaco, é responsável pela natureza altamente viciante dos cigarros. Ao fumar, a nicotina liga-se a receptores nicotínicos (nAChRs) e ativa-os, causando o efeito prazeroso através desta estimulação (29).

Variações em diferentes genes contribuem para o efeito e a dependência à nicotina. Duas classes de genes, em especial, têm importante papel em modular a dependência nicotínica: genes que influenciam a resposta à nicotina (metabolizadores e receptores nicotínicos) e genes que predisõem ao comportamento viciante devido a seus efeitos nas principais vias de neurotransmissores como dopamina e serotonina, estimulados pela ação da nicotina no sistema nervoso central (28).

A variação genética na farmacocinética da nicotina, através de enzimas metabolizadoras, ou na farmacodinâmica, através de receptores no SNC, podem alterar o comportamento de fumar de um indivíduo. Através deste sistema, o fumante busca manter constantes os níveis de nicotina no organismo, de modo que alcance efeitos prazerosos e evite sintomas de abstinência (29).

1.2.2.1 Genes que influenciam a resposta à nicotina

Dentre os vários produtos químicos contidos no cigarro, a nicotina é a responsável por tornar um indivíduo adicto, uma vez que é um fármaco psicoativo, e para isso, o fumante busca manter os níveis de nicotina constantes no organismo (28, 32).

O modelo mais aceito é que indivíduos com um alto metabolismo da nicotina apresentem menos reações adversas nos primeiros usos da nicotina e, portanto, tem uma chance maior de continuar fumando e se tornar adicto. Além disso, com a rápida metabolização é necessário fumar mais cigarros e dar mais tragadas por cigarro para manter no nível de nicotina no organismo. Por outro lado, indivíduos que são portadores de metabolizadores lentos da nicotina podem ser menos propensos a iniciar o tabagismo, pois podem sofrer mais efeitos adversos e exigiriam menos cigarros para manter as quantidades de nicotina em um nível que não desencadeia fissura (28).

Quando uma pessoa inala a fumaça de um cigarro, a nicotina é destilada do tabaco e transportada através de partículas de fumaça para os pulmões, onde é absorvida rapidamente pela circulação pulmonar. Em seguida, a nicotina entra na circulação arterial e move-se rapidamente para o cérebro, atravessando a barreira hematoencefálica, em decorrência de suas propriedades lipofílicas (31, 33).

A nicotina se difunde prontamente no tecido cerebral, onde liga-se aos nAChRs. Estes receptores são canais iônicos pentaméricos, controlados por ligantes, por onde passam Na⁺, K⁺ e íons Ca²⁺ e, portanto, têm a capacidade de alterar a atividade celular. A entrada desses íons pode impactar a

excitabilidade celular ou acionar moléculas sensíveis ao cálcio, como a proteína quinase C (PKC), proteína quinase A (PKA), proteína quinase II dependente de calmodulina (CAMKII), e quinases reguladas por sinal extracelular (ERKs) (31, 33).

O complexo nAChR é composto por cinco subunidades e é encontrado tanto no sistema nervoso periférico quanto no central. São 12 os genes que codificam as subunidades α e β , *CHRNA2-10* e *CHRNAB2-4*. Eles são classificados como α quando há a presença de um par do aminoácido cisteína ou β quando o par de cisteína está ausente (31, 33).

No cérebro dos mamíferos, existem nove subunidades α ($\alpha 2$ a $\alpha 10$) e três subunidades β ($\beta 2$ a $\beta 4$). Os subtipos de receptores mais abundantes expressos no cérebro de humanos são o receptor homomérico $\alpha 7$ e o heteromérico $\alpha 4\beta 2$. A variabilidade na composição, localização neuroanatômica e características farmacológicas desses receptores influenciam na dependência de nicotina (31, 33).

Em estudos com camundongos nocaute para o gene da subunidade $\beta 2$ foi visto que a ausência deste gene elimina os efeitos comportamentais da nicotina, de modo que a substância não é capaz de liberar mais dopamina no cérebro. Quando há a reinserção deste gene nos camundongos, foi observada restauração das respostas comportamentais à nicotina (31, 33).

Já a subunidade $\alpha 4$ parece ser um importante determinante da sensibilidade à nicotina. Em camundongos foi visto que uma única mutação pontual de nucleotídeo na região de formação de poros resulta na codificação de um receptor hipersensível aos efeitos da nicotina. Sendo assim, a

subunidade $\alpha 4$ tornou os camundongos muito mais sensíveis aos comportamentos de recompensa induzidos pela nicotina, bem como aos efeitos na tolerância e sensibilização (31).

Sabe-se que existem 16 diferentes genes responsáveis por codificar as subunidades do receptor nicotínico, entretanto, estudos genome-wide identificaram um locus no cromossomo 15q25.1 como sendo o mais importante do genoma para a dependência de nicotina. Este locus é responsável por codificar as subunidades nAChR $\alpha 5$ e nAChR $\alpha 3$ (34, 35).

O gene para o receptor nicotínico de acetilcolina subunidade alfa 5 (*CHRNA5*) pode apresentar o polimorfismo rs16969968, que tem relação com dependência ao tabagismo. O alelo de risco em rs16969968, no éxon 5, provoca a substituição de um aspartato por uma asparagina na subunidade $\alpha 5$, e como consequência, há alterações funcionais no receptor (35).

O alelo de risco rs16969968 para fumantes, resulta na variante do receptor nAChR $\alpha 5$ com permeabilidade reduzida ao Ca^{2+} e maior dessensibilização (ou seja, funcionalidade reduzida) em comparação com a isoforma do receptor do tipo selvagem (portadores do alelo G) em nAChRs pré-sinápticos no sistema nervoso central (SNC). A frequência do alelo menor varia de 0,008 em população africana a 0,3 em latino americanos (36, 37).

Além do gene *CHRNA5*, polimorfismos no gene que codifica a subunidade $\alpha 3$ do receptor nicotínico (*CHRNA3*) também já foram associados à maior dependência tabágica, sendo considerados como alelos de risco as variantes rs6495309 e rs1051730. Estudos recentes de associação genômica demonstraram associações convincentes entre variações genéticas,

dependência de nicotina e comportamento de fumar. O SNP rs1051730 no cromossomo 15q25 mostrou uma forte associação (38).

Para esse SNP, que mostra uma frequência de alelo de risco de aproximadamente 38% nas populações europeias, cada cópia do alelo de risco correspondia a um aumento na quantidade de fumo de 1 cigarro por dia. A frequência do alelo menor varia de 0,025 na população do leste da Ásia à 0,35 em europeus (39, 40).

Este aglomerado de variantes genéticas no gene *CHRNA* demonstrou também estar associado não apenas à quantidade de tabaco e dependência à nicotina, mas também a doenças relacionadas ao tabagismo, como DPOC, câncer de pulmão, doença arterial periférica e câncer de bexiga. Nem todos os fumantes desenvolvem essas doenças relacionadas ao tabagismo, fato que pode indicar que as diferenças genéticas também contribuem para a suscetibilidade individual (39).

Esse conjunto de variantes nos genes de receptores nicotínicos também é conhecido por ser uma área de alta correlação entre o rs1051730 (*CHRNA3*) e o rs16969968 (*CHRNA5*) nas populações europeias e, portanto, essas variantes são consideradas essencialmente intercambiáveis. O rs16969968 é uma variante de codificação e o rs1051730 deve ser considerado um marcador substituto (39).

A forte correlação entre variantes genéticas nos genes *CHRNA5-CHRNA3* representado por rs1051730, além do aumento na quantidade de fumo de cigarro por dia sugere que o alelo mutado (T) pode estar associado à sensibilidade reduzida aos níveis plasmáticos de nicotina, levando ao aumento do consumo de tabaco. Fumantes homozigotos para o alelo mutado (T/T)

fumam mais frequentemente do que não portadores deste alelo ou fumantes heterozigotos (39).

Keskitalo e colaboradores mediram a quantidade de fumo de cigarro por dia e os níveis séricos de cotinina em 560 fumantes diários de uma população finlandesa. Estes dois marcadores foram fortemente associados ao rs1051730. Assim, os autores concluíram que o polimorfismo do receptor nicotínico influencia os níveis de cotinina/nicotina e parece estar envolvido no metabolismo e/ou regulação da nicotina (41).

A associação entre DPOC e tabagismo pode, também, estar presente nas variantes genéticas comuns a essas duas condições. Hobbs et. al. identificaram 22 loci genéticos associados à DPOC, representados na figura 8, sendo que destes, 9 foram descritos anteriormente como genoma (ou exoma) em termos significativos em estudos de DPOC: *HHIP*, *CHRNA5*, *HTR4*, *FAM13A*, *RIN3*, *TGFB2*, *GSTCD-NPNT*, *CYP2A6* e *IL27-CCDC101*. Alguns destes genes são relacionados a dependência nicotínica, em especial *CHRNA5*, que teve a maior associação estatística com a DPOC. A razão de chances para estes 22 loci variou de 1,05 a 1,25, indicando que cada variação genética individual explica uma pequena fração (42).

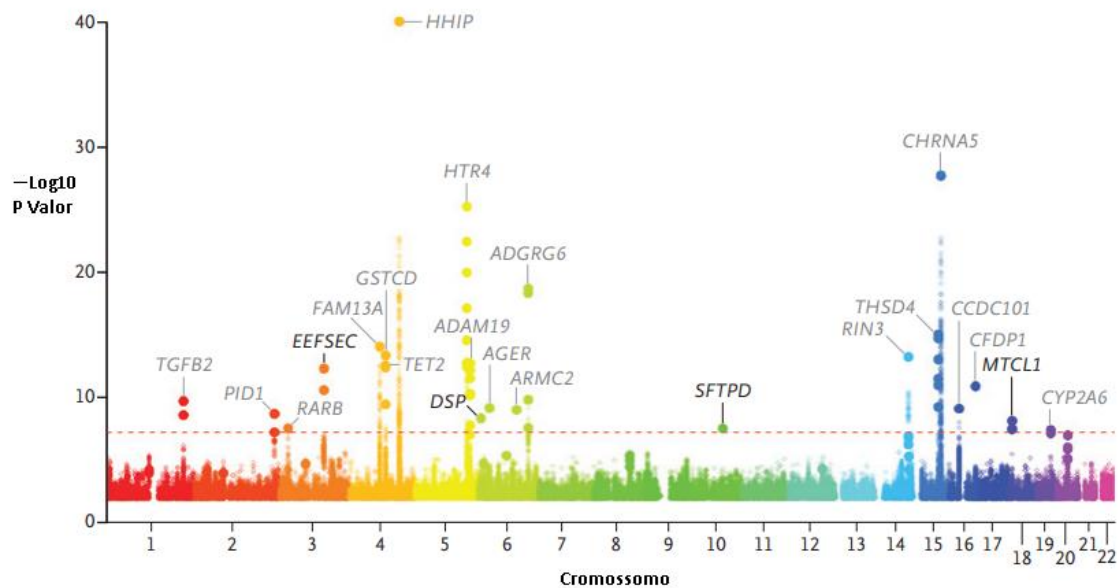


Figura 8. Gráfico de estudo genome-wide indicando genes que apresenta maior associação com DPOC. Fonte: Adaptado de Hobbs et al. (2017).

Lee e colaboradores relataram que a variante rs6495309 reduz significativamente a atividade do promotor, o que diminui a expressão do gene *CHRNA3*. Portanto, é plausível que indivíduos com menor produção do alelo rs6495309 do gene *CHRNA3* possam ter uma menor resposta inflamatória à exposição ao tabagismo, tendo assim uma menor suscetibilidade à DPOC. Para este SNP, a frequência do alelo menor varia de 0,2 em população africana e europeia a 0,41 em população do sul da Ásia (43).

Outro gene que é associado à DPOC, porém pouco estudado, é o *FAM13A*. Localiza-se no locus 4q22, possui 25 éxons e codifica *FAM13A*, uma proteína importante para a transdução de sinal. Este gene carrega um SNP considerado como de risco para a doença, que é o rs7671167. Este SNP mostrou forte associação com DPOC e fenótipos relacionados à DPOC em populações não-asiáticas através de estudos de associação genômica recentes

e pela abordagem genômica integrativa. Para este SNP, a frequência do alelo menor varia de 0,4 em europeus e asiáticos a 0,6 em africanos (38, 44, 45).

Além dos polimorfismos associados às subunidades dos receptores nicotínicos, os biomarcadores do metabolismo da nicotina focam em representar a variabilidade no metabolismo, o que contribui de forma específica para o comportamento de fumar (46).

Sabe-se que para manter os níveis constantes de nicotina, a mesma precisa ser metabolizada no organismo. A CYP2A6 é uma enzima do citocromo P450 e é considerada um metabolizador de alta afinidade da nicotina, e de seu metabólito oxidado, a cotinina. Esta enzima apresenta produção predominantemente hepática, com alguma expressão em células extra-hepáticas especializadas (47).

Uma vez no sangue, ocorre uma reação em duas etapas, onde a nicotina é primeiro oxidada no íon nicotina-imínio e, posteriormente, em cotinina pela enzima aldeído-oxidase citosólica. A formação mediada pelo CYP2A6 do íon nicotina-imínio a partir da nicotina é a etapa limitante dessa reação e, até 80% da nicotina é metabolizada em cotinina. Posteriormente, a cotinina é oxidada em vários metabólitos pelas enzimas CYP (47).

O gene *CYP2A6* foi mapeado no cromossomo 19, onde está localizado dentro de um aglomerado de genes de 350 pares de base (pb) em conjunto com os genes *CYP2A7* e *CYP2A13*, e as subfamílias de genes *CYP2B* e *CYP2F*. Abaixo, na figura 9, podemos observar a organização geral deste agrupamento de genes, que contém os genes funcionais *CYP2A6*, *CYP2B6* e *CYP2F1*, os genes não funcionais *CYP2A7* e *CYP2B7*, assim como alguns pseudogenes (47).

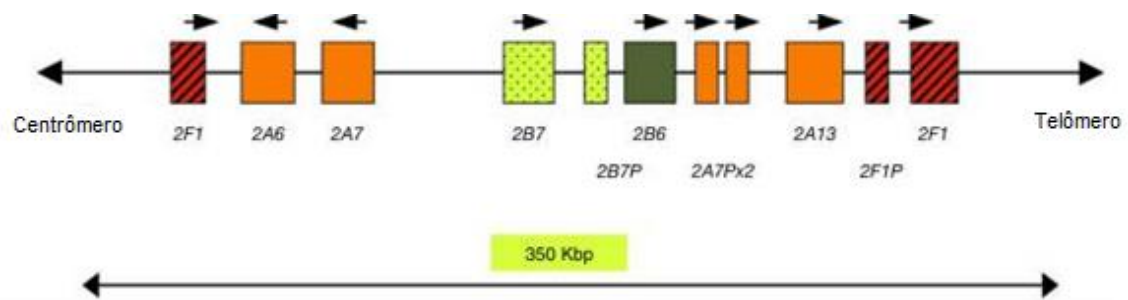


Figura 9. Esquema do agrupamento de genes CYP2A6-2B-2F. Fonte: Raunio (2001).

Um cluster de 350 kilo pares de base (kpb) é mostrado. As setas indicam o sentido da transcrição. P é um pseudogene.

A atividade catalítica desta enzima apresenta diferenças interindividuais, decorrentes de mutações no gene que a codifica. Sabe-se então que quando há polimorfismos de *CYP2A6*, isto influenciará a taxa de metabolização de nicotina, o que pode modular a dependência do indivíduo (32).

A existência de um polimorfismo genético do *CYP2A6* foi sugerida por evidências de que havia uma extensa diferença interindividual na capacidade de 7-hidroxilação da cotinina. Fumantes que herdam um alelo de *CYP2A6* metabolicamente deficiente fumam menos cigarros por dia e exibem menos dependência de nicotina. Prevê-se que a atividade do *CYP2A6* resulte em um menor nível de tabagismo devido a depuração mais lenta da nicotina, juntamente com um nível diminuído de ativação de nitrosaminas para espécies cancerígenas (48, 49).

Em relação ao tabagismo e genótipo de *CYP2A6*, os estudos mostraram que aqueles com alelos variantes de *CYP2A6* apresentaram menor nível de dependência em termos de número de cigarros consumidos por dia e também apresentaram maior facilidade para parar de fumar (49).

Detectar os alelos do *CYP2A6* pode nos ajudar a descrever diferentes comportamentos de fumantes e doenças relacionadas ao fumo entre indivíduos. Numerosos alelos caracterizados e alguns haplótipos não caracterizados foram identificados e a maioria deles é derivada de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPS) em regiões reguladoras e de codificação. O alelo do tipo selvagem considerado como referência é *CYP2A6* *1A. Atualmente, sabe-se que *CYP2A6**6, *CYP2A6**7, *CYP2A6**9, *CYP2A6**10, *CYP2A6**11 e *CYP2A6**13 levam a atividades enzimáticas reduzidas, enquanto 5 variantes (*CYP2A6**2, *CYP2A6**4, *CYP2A6**5, *CYP2A6**12 e *CYP2A6**20) não produzem enzima funcional (50).

Dentre os vários polimorfismos de *CYP2A6*, Oscarson et. al. descreveram a variante alélica *CYP2A6**2, onde há substituição de uma leucina por uma histidina na posição 160, codificando uma enzima com atividade reduzida. Esta variante é um dos polimorfismos causais associados ao metabolismo da nicotina diminuído ou praticamente ausente nos caucasianos, uma vez que é produzida uma proteína inativa. Nas populações do leste e sudeste da Ásia, como chinês, coreano, japonês, malaio e tailandês, o *CYP2A6* *2 é inexistente (50, 51).

Assim, portadores do alelo *2, que são considerados metabolizadores lentos em vez de metabolizadores intermediários de nicotina, podem experimentar um fenômeno de "tolerância à nicotina" com alto consumo de cigarro (> 20) no início da vida de fumantes. Ou seja, fumantes com o alelo *CYP2A6**2 podem experimentar mais efeitos negativos quando começam a se tornar fumantes, mas quando continuam fumando, podem experimentar níveis prolongados de nicotina no cérebro, tornando-se mais rapidamente tolerantes

e, portanto, precisando fumar mais. Segundo dados do dbSNP, a frequência do alelo menor na população geral varia de 0, em populações asiáticas, a 0,2% em europeus (52, 53).

Um ano após, foi descrito o alelo *CYP2A6*5*, responsável pela codificação de uma enzima defeituosa, devido à substituição de uma glicina por uma leucina na posição 479. Segundo dados do dbSNP, a frequência do alelo menor varia de 0, em populações latino americanas, a 0,15 em populações do leste da Ásia (51, 53).

Um estudo realizado por Vasconcelos et. al. descreve a variante alélica *CYP2A6*1B*, onde há conversão do gene 3'UTR e substituição de uma adenina por uma guanina na posição -1013 (32).

Vasconcelos e colaboradores relataram que indivíduos que têm um ou dois alelos inativos de *CYP2A6* começam a fumar mais tarde, fumam por períodos mais curtos, têm maior probabilidade de parar de fumar e fumar menos cigarros que os indivíduos homocigotos para o alelo do tipo selvagem da enzima (32).

1.2.3 Como avaliar o tabagismo

Questionários sobre hábitos de fumar de um indivíduo têm sido frequentemente aplicados no cotidiano de consultas médicas, visando fornecer relevância clínica e poder preditivo de medidas como o grau de dependência ao tabaco de um indivíduo ou resposta a terapias de cessação do tabagismo (31).

Existem vários métodos tradicionais e simples que podem ser utilizados para medir o nível de dependência de um indivíduo, além de prever a probabilidade de recaída. Avaliações como o questionário de tolerância de Fagerström (FTQ), o índice de fumo pesado (HIS) e o teste de dependência de nicotina de Fagerström (FTND) são critérios utilizados para avaliar a dependência física e cognitiva além de sintomas comportamentais e fisiológicos (31).

Atualmente o teste FTND é o mais utilizado para avaliar as características de dependência, como consumo de cigarros e a compulsão para utilização. A avaliação consiste em uma escala de 1 a 10, onde pontuações entre 1 e 2 indicam baixa dependência e 8 ou mais, alta dependência (31).

Em conjunto, essas avaliações citadas acima foram consideradas clinicamente importante, pois preveem critérios de dependência, como desejo, gravidade dos sintomas de abstinência e resultados de cessação do tabagismo (31).

1.2.3.1 Auto-referido

Para estudar os comportamentos tabágicos, estudos de farmacogenética, além de biomarcadores, têm utilizado fenótipos autorrelatados. A condição auto-referida de um indivíduo fumante tem sido utilizada para determinar a probabilidade e a idade de início do tabagismo, e distinguir fumantes, ex-fumantes e nunca fumantes (29).

A utilização de informações auto-referidas tem sido aplicada em muitos estudos, visando estimar as prevalências de tabagismo na população. O

tabagismo auto-referido tem sido recomendado por estudos internacionais, pois através disso é possível realizar uma comparação de resultados com estudos realizados em outros países (54).

A avaliação do tabagismo auto-referido é dada através de medidas de consumo de cigarros por dia (CPD), que está sujeita a desejo social ou viés de memória (29).

O tabagismo auto-referido é amplamente reconhecido, entretanto os indivíduos podem subnotificar a exposição ao cigarro, em um fenômeno conhecido como viés de resposta, que pode ocorrer quando os participantes do estudo fornecem respostas socialmente desejáveis. O viés de resposta é uma das razões pelas quais a precisão de comportamentos auto-relatados, como o uso de tabaco, pode ser menos precisa entre certas populações (55).

Um estudo de Gorber et. al. revisou sistematicamente a literatura para medir a concordância entre o tabagismo auto-referido. Os dados mostraram tendências de subestimação para a prevalência de tabagismo baseada no auto-relato. Além disso, foi encontrado também níveis variados de sensibilidade para estimativas auto-relatadas, oscilando de acordo com a população estudada. A validação do uso de tabaco auto-referido pode variar de acordo com o sexo e a aceitação social do tabagismo (55, 56).

Em pesquisas com gestantes ou pacientes com doenças respiratórias, por exemplo, existe uma subnotificação do tabagismo quando utilizado o uso de tabaco autorreferido (55).

1.2.3.2 Cotinina

Dado que o tabagismo auto-relatado nem sempre produz resultados confiáveis, outros marcadores têm sido utilizados para avaliar o status tabágico, incluindo medidas de cotinina em fluídos biológicos (57).

A cotinina, que é o principal metabólito da nicotina, pode ser detectada em amostras de sangue, saliva e urina, e é reconhecida como o indicador mais adequado de exposição à fumaça do tabaco. Pesquisas para validar o auto-relato no comportamento tabágico, utilizando vários métodos (por exemplo, cotinina e tiocianato), indicam que a cotinina é o melhor método para determinar o status de tabagismo em estudos epidemiológicos de grande escala (57).

O uso de biomarcadores oferece uma maneira mais precisa de medir sistematicamente a subnotificação de comportamentos associado ao uso do tabaco, e se realizado de maneira correta, pode auxiliar no entendimento das desigualdades na notificação aos sistemas de saúde (57).

A cotinina tem sido utilizada como biomarcador de exposição ao tabaco em um grande número de estudos, incluindo aqueles que têm a enzima CYP2A6 como objeto de estudo nas influências genéticas sobre o tabagismo. Em fumantes pesados, a cotinina plasmática está correlacionada diretamente com consumo de tabaco. No entanto, os níveis de cotinina podem superestimar a exposição ao tabaco em indivíduos que são metabolizadores mais lentos de nicotina. Isto ocorre porque a atividade da enzima CYP2A6 influencia a depuração de cotinina mais do que a formação de cotinina (58-60).

Sendo assim, os metabolizadores lentos de nicotina exibem maior quantidade nos níveis de cotinina plasmática do que metabolizadores normais, mesmo fumando menos cigarros. Os níveis mais altos de cotinina plasmática

em metabolizadores mais lentos versus metabolizadores normais não refletem com precisão as diferenças no tabagismo (58, 59).

Portanto, outros biomarcadores devem ser utilizados para determinar o nível de consumo de tabaco, especialmente quando se trata de grupos contrastantes em relação à atividade de CYP2A6. Como exemplo estão os indivíduos com genótipos diferentes, onde diferentes grupos étnicos apresentam diferentes frequências do genótipo *CYP2A6*, e aqueles de gênero diferente, onde as mulheres são consideradas metabolizadoras de nicotina mais rápidas do que os homens (58, 59).

1.2.3.3 Monóxido de carbono exalado (COex)

O monóxido de carbono (CO) é um gás inodoro, insípido, incolor e venenoso, produzido a partir da combustão incompleta de compostos orgânicos. O CO comporta-se de maneira semelhante ao oxigênio no organismo, porém tem cerca de 200 a 260 vezes mais afinidade com a hemoglobina (Hb) (61).

As pessoas são expostas ao CO no cotidiano principalmente através de fontes diretas de CO e também através do tabagismo. A inalação de CO eleva os níveis de carboxihemoglobina (COHb) no sangue e também na concentração de CO exalado (61).

Em ambientes clínicos aumentou-se o uso de dispositivos portáteis capazes de avaliar o monóxido de carbono exalado em pacientes. Este teste envolve solicitar ao paciente que expire lentamente em um dispositivo, que então fornece resultados instantâneos, indicando níveis recentes de CO no

organismo. A aplicabilidade deste teste torna-se então um marcador útil do tabagismo recente (55).

Estudos indicam que os fumantes têm maiores chances de fazer uma tentativa bem-sucedida na cessação do tabagismo, quando um dispositivo de COex for utilizado como parte do plano de cessação apoiado e estruturado. Sendo assim, o uso rotineiro desses dispositivos em ambientes clínicos pode ajudar a normalizar o teste de tabagismo e também contribuir para que o paciente veja o tabagismo como uma doença e não como uma escolha (55).

1.3 Avaliação da dependência tabágica em pacientes com DPOC

Atualmente, a avaliação do tabagismo em pacientes portadores de doenças respiratórias é parte integrante do tratamento. A cessação tabágica é considerada uma intervenção efetiva para retardar a evolução da DPOC (62).

Entretanto, um estudo realizado por Stelmach et. al. evidenciou que o status tabágico autorreferido não é confiável em pacientes com DPOC. Os autores determinaram os níveis de monóxido de carbono no ar exalado (COex) e de cotinina urinária, metabólitos que se fazem presentes quando do uso de tabaco (62).

Neste estudo, através do questionário aplicado, todos os pacientes declararam não ser fumantes. Contudo, verificou-se que 47% dos pacientes com DPOC apresentavam índices de cotinina urinária elevados, evidenciando tabagismo ativo (62).

Com base nos resultados encontrados, os autores sugeriram que os pacientes portadores de DPOC fornecem informações imprecisas quanto ao tabagismo. A medição de COex se mostrou capaz de detectar o status de

tabagismo ativo em grande parte dos fumantes, além se correlacionar diretamente com a cotinina urinária excretada (62).

Atualmente muito se sabe sobre a correlação entre susceptibilidade genética ao tabagismo e doenças respiratórias, como câncer de pulmão e asma. Entretanto, até o presente momento, não há relatos na literatura se há maior prevalência de alterações genéticas em polimorfismos sabidamente associados à dependência tabágica (genes *CYP2A6*, *FAM13A* e *CHRNA*) em pacientes com diagnóstico de doença pulmonar obstrutiva crônica.

2 OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO

2.1 Objetivo primário

Comparar a prevalência dos polimorfismos de *CYP2A6*, *CHRNA* e *FAM13A* em pacientes tabagistas com DPOC e tabagistas sem DPOC.

2.2 Objetivos secundários

Avaliar se os portadores de DPOC com esses polimorfismos têm maior dificuldade em cessar o tabagismo, maior carga tabágica ou tem a tendência de subestimar e negligenciar o hábito tabágico para profissionais de saúde responsáveis pelo seu atendimento.

2.3 Justificativa

Se a associação entre susceptibilidade genética ao tabagismo e DPOC for confirmada, estudos posteriores de coorte prospectiva poderão verificar se os polimorfismos estudados poderão ser marcadores de risco para a DPOC.

Se for detectada maior prevalência das variações genéticas estudadas em pacientes com DPOC, estas variantes poderão ser posteriormente pesquisadas em indivíduos tabagistas, com o intuito de marcar risco para desenvolvimento de DPOC e necessidade de intervenções mais contundentes para cessação do tabagismo.

Caso seja detectada omissão ou subestimação do hábito tabágico nos pacientes com predisposição genética ao tabagismo, evidenciada por medida de COex, isto poderá ser utilizado na prática clínica para aumentar o papel das medidas objetivas de tabagismo como COex ou cotinina urinária em pacientes com DPOC.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Estudo transversal realizado com pacientes portadores de DPOC e tabagistas não portadores de DPOC, tratados nos Ambulatórios de Pneumologia e Geral e Didático do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, na cidade de São Paulo (SP). Cada participante foi orientado sobre os objetivos da pesquisa e, caso consentisse em participar, assinava o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

O projeto e o TCLE foram aprovados pelo comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (número de aprovação: 71681617.5.0000.0065); além disso, por estarmos estudando uma população de pacientes provenientes do Hospital das Clínicas, o projeto também passou por uma aprovação do CAPPesq comitê de ética e pesquisa interno do Hospital das Clínicas.

Houve uma entrevista com os participantes em que os mesmos responderam perguntas sobre seu hábito de fumar, raça autodeclarada, sintomas respiratórios e não respiratórios, estilo e qualidade de vida, exposição ambiental e uso de medicamentos (Anexos 8.2 e 8.3). Posteriormente, foi coletada uma amostra de sangue em tubo de EDTA para realização de genotipagem e feita uma dosagem de COex, conforme metodologia abaixo.

Os pacientes informavam peso e altura, para que fosse possível realizar cálculo de índice de massa corporal (IMC). Com relação à raça autodeclarada, nossos pacientes declaravam-se brancos, pardos, negros ou amarelos. No grupo não localizamos nenhum indivíduo que se declarou indígena.

O hábito de fumar foi caracterizado de acordo com a quantidade de cigarros fumados por dia, onde foi possível calcular posteriormente a carga tabágica de cada indivíduo. Além disso, os pacientes relatavam a idade de início e caso fossem ex-tabagistas, a idade de fim do tabagismo. Para o caso dos não tabagistas, estes dados não eram questionados. Houve questionamento também se os pacientes eram fumantes passivos, ou seja, se eles conviviam com algum indivíduo tabagista.

Houve questionamento também se os indivíduos tiveram exposição à queima de biomassa no passado, como fogão a lenha ou exposição ocupacional à queima de carvão, por exemplo.

Como critérios para avaliar sintomas respiratórios, aplicamos o questionário que avaliava a escala de dispneia (mMRC - modified Medical Research Council), ou escala de dispneia modificada do Conselho de Pesquisa Médica, onde o paciente classificava o quanto sua dispneia afetava as atividades do dia a dia, como tomar banho, sair de casa ou subir um andar de

escadas (Tabela 3). Os pacientes também foram questionados quanto a presença de expectoração crônica e tosse, e também ao número de exacerbações ocorridas no último ano, relatando qual a data da última exacerbação.

Quanto ao tratamento destes pacientes, os mesmos relataram se utilizavam beta-agonistas de longa duração (LABA) em combinação ou não com corticóide inalatório (CI). Os LABAs disponibilizados pelo SUS e que os pacientes do grupo tinham acesso através do Hospital das Clínicas era salmeterol ou formoterol, e os Cis eram budesonida ou fluticasona. Já as combinações mais utilizadas eram salmeterol com fluticasona ou formoterol com budesonida.

Para pacientes com DPOC em grau mais avançado, era indicado também a terapia com o broncodilatador tiotrópio. Havia ainda os pacientes onde era indicada a oxigenioterapia.

O cálculo amostral foi feito utilizando o programa OSSE (Online Sample Size Estimator). Considerou-se o poder do estudo como 80% e significância como 5%, sendo utilizada como base para os cálculos a frequência do alelo *CYP2A6*2* em população espanhola e chinesa (frequência alélica foi de 0% nos chineses e 3% em espanhóis). Baseado neste cálculo, 250 pessoas deveriam ser incluídas em cada grupo de nosso estudo (Oscarson et. al., 1999).

Nosso estudo apresentou uma limitação especial, no que se refere à coleta do grupo de pacientes tabagistas, onde não foi possível coletar a quantidade estipulada pelo cálculo amostral, de 250 indivíduos.

O recrutamento no grupo de pacientes tabagistas apresentou dificuldades, uma vez que alguns indivíduos selecionados, ao realizarem o teste de espirometria, apresentavam relação $VEF_1/CVF < 0,7$, indicando um grau de obstrução. Esta relação inferior a 0,7 fizeram então com que estes pacientes fossem excluídos do estudo.

3.2 Critérios de inclusão dos participantes

- **Grupo DPOC:** Pacientes com diagnóstico de DPOC confirmado por ao menos duas espirometrias realizadas em momentos distintos (relação VEF_1/CVF inferior a 0,7 sem resposta a broncodilatador). Neste grupo foram incluídos pacientes com DPOC tabagistas, ex-tabagistas. Pacientes com DPOC não tabagistas também foram incluídos no estudo para comparação posterior.

- **Grupo tabagista:** Indivíduos tabagistas atuais ou pregressos com espirometria demonstrando relação VEF_1/CVF superior a 0,7, não sendo utilizado broncodilatador para a realização do exame.

Será feito pareamento 1:1:1 entre os grupos para raça autodeclarada, sexo e idade, visto que a frequência dos polimorfismos estudados sofre interferência direta destas variáveis.

3.3 Critérios de exclusão dos participantes

3.3.1 Grupo DPOC:

- Incapacidade cognitiva ou física para realizar os exames complementares do protocolo

- Doença cardiovascular ou metabólica grave e descompensada

- Histórico atual ou progresso de câncer
- Não aceitou participar do estudo ou preencher o TCLE
- Impossibilidade de realizar coleta

3.3.2 Grupo tabagista:

- Incapacidade cognitiva ou física para realizar os exames complementares do protocolo

- Doença cardiovascular ou metabólica grave e descompensada
- Histórico atual ou progresso de câncer
- Impossibilidade de realizar coleta
- Não aceitou participar do estudo ou preencher o TCLE
- Histórico de doença pulmonar (relação VEF₁/CVF inferior a 0,7)
- Espirometria anormal

3.4 Determinação da concentração de COex

A concentração de COex foi mensurada em uma amostra de ar expirado com um testador de CO (MicroMedical Micro CO Monitor - CareFusion). Os participantes do estudo receberam instruções de como utilizar o equipamento que analisava o ar expirado, além de ter a oportunidade de praticar. Os valores de COex foram expressos em ppm, onde medidas entre 0 e 6 ppm indicam ausência de tabagismo e medidas acima de 6 ppm indicam presença de tabagismo recente.

3.5 Genotipagem de *CYP2A6*, *CHRNA3*, *CHRNA5* e *FAM13A*

Inicialmente, o sangue periférico foi coletado dos pacientes participantes do estudo. O DNA genômico foi extraído de leucócitos periféricos presentes na

camada buffycoat, através do kit comercial ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep System Pro, de acordo com as instruções do fabricante.

3.5.1 CYP2A6

Para a genotipagem do alelo *CYP2A6**2, foi realizada uma PCR que consistia em duas etapas, também conhecida como Nested PCR. Na primeira reação de PCR (PCR I), uma parte do gene *CYP2A6* foi especificamente amplificada e o produto subsequentemente utilizado como molde na segunda reação de PCR, específica para mutação (PCR II), também conhecida como reação alelo-específica (63).

Para a PCR I foram utilizados os primers 2A6ex1 e 2A6ex4R (Tabela 6). A mistura da reação continha 2µL de DNA genômico em uma concentração entre 30 a 50ng/µL, 0,10µM de cada um dos primers, 0,4U de Taq Polimerase, SuperFi Buffer (5X) e SuperFi GC Enhancer (5X) (Invitrogen™ Platinum™ SuperFi™ DNA Polymerase), em um volume total de 50 µL, utilizando o sistema de PCR Eppendorf® Mastercycler Gradient.

A reação no termociclador seguiu uma desnaturação inicial de 98°C por 30 segundos, seguida de 35 ciclos de 98°C por 10 segundos, anelamento a 60°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos, seguindo instruções do fabricante da Taq Polimerase (THERMO FISHER, 2018). Após amplificação no termociclador, foi realizada uma corrida em gel de agarose (Multi-Purpose Agarose - Ludwig Biotecnologia) a uma concentração de 2%, corado com brometo de etídio (UltraPure™ Ethidium Bromide – Thermo Fisher Scientific), onde foi possível observar a amplificação do gene através de uma banda de 2056 pares de base (pb), com o auxílio de um ladder de 100 pb (Ludwig Biotecnologia).

A mistura para a PCR II continha 2 μ L do produto da PCR I, 0,10 μ M de primer 2A6wt ou 2A6mut juntamente com 0,10 μ M do primer E3R, 0,1 mM de cada dNTP, 1,0mM de MgCl₂, 2,5U de Taq polimerase (GoTaq® Hot Start Polymerase - Promega Biotecnologia) e tampão de PCR contendo 10 mM de Tris-HCl em pH 8,3 e 50 mM de KCl (Life Technologies), totalizando um volume final de 25 μ L.

A amplificação foi realizada por desnaturação inicial a 95°C durante 1 minuto, seguido por 16 ciclos de 95°C por 15 segundos, anelamento a 50°C por 20 segundos e extensão a 72°C durante 45 segundos. Os produtos de PCR foram posteriormente analisados em gel de agarose a 2%, corados com brometo de etídio, onde foi possível observar a amplificação de banda de 81 pb, com o auxílio de um ladder de 100 pb (63).

Tabela 6. Sequência de primers utilizados nas reações de Nested PCR para amplificação do gene *CYP2A6*.

Primer	Sequência dos primers 5' 3'
2A6ex1	5' GCT GAA CAC AGA GCA GAT GTA CA 3'
2A6ex4R	5' GGA GGT TGA CGT GAA CTG GAA GA 3'
2A6wt	5' CTC ATC GAC GCC CT 3'
2A6mut	5' CTC ATC GAC GCC CA 3'
E3R	5' TCG TCC TGG GTG TTT TCC TTC 3'
2A6ex8F	5' CCA GCA CTT CCT GAA TGA G 3'
2A6R1	5' GCA CTT ATG TTT TGT GAG ACA TCA GAG ACA A 3'
2A6*5wt	5' CCC CAA ACA CGT GGG 3'
2A6*5mut	5' CCC CAA ACA CGT GGT 3'
2A6R2	5' AAA ATG GGC ATG AAC GCC C 3'
2A6*1Bwt	5' ACT GGG GGC AGG ATG GC 3'
2A6*1Bmut	5' AAT GGG GGC AAG ATG GC 3'

O método de PCR em duas etapas também foi utilizado para detecção dos alelos *CYP2A6*5* e *CYP2A6*1B*. Na primeira reação de PCR (PCR I), uma região do éxon 8 do gene *CYP2A6* foi especificamente amplificada. O produto de PCR foi posteriormente utilizado como modelo na segunda reação de PCR alelo-específica (PCR II).

O PCR I foi feito usando os primers 2A6ex8F e 2A6R1. A mistura da reação continha 2µL de DNA genômico em uma concentração entre 30 a 50ng/µL, 0,10µM de cada um dos primers, 0,4U de Taq Polimerase, SuperFi Buffer (5X) e SuperFi GC Enhancer (5X) (Invitrogen™ Platinum™ SuperFi™

DNA Polymerase), em um volume total de 50 µL, utilizando o sistema de PCR Eppendorf® Mastercycler Gradient (51).

A reação no termociclador seguiu uma desnaturação inicial de 98°C por 30 segundos, seguida de 35 ciclos de 98°C por 10 segundos, anelamento a 60°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos, seguindo instruções do fabricante da Taq Polimerase (THERMO FISHER, 2018). Após amplificação no termociclador, foi realizada uma corrida em gel de agarose, a uma concentração de 2%, corado com brometo de etídio, onde foi possível observar a amplificação do gene através de uma banda de 1304pb, com o auxílio de um ladder de 100 pb.

A mistura para a reação alelo-específica de *CYP2A6*5* (PCR II) continha 2µL do produto da PCR I, 0,10µM do primer 2A6*5wt ou 2A6*5mut juntamente com 0,10µM do primer 2A6R2, 0,1 mM de cada dNTP, 1,0 mM de MgCl₂, 2,5U de Taq Polimerase (GoTaq® Hot Start Polymerase - Promega Biotecnologia) e 1x tampão de PCR (Life Technologies), em um volume final de 25 µL.

A amplificação foi realizada por desnaturação inicial a 95°C durante 1 minuto, seguido de 15 ciclos a 95°C durante 15 segundos, anelamento a 54°C durante 20 segundos e extensão a 72°C durante 45 segundos. Foi aplicado 10 µl dos produtos de PCR em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio, onde foi possível observar a amplificação do gene através de uma banda de 409 pb.

Um método semelhante foi utilizado para a detecção do alelo *CYP2A6*1B*, exceto que na PCR II os primers utilizados foram 2A6*1Bwt e 2A6*1Bmut. 10 µl do produto da PCRII foi utilizado para corrida em

gel de agarose, onde foi possível observar a amplificação do gene através de uma banda de 258pb (51).

3.5.2. *CHRNA5*, *CHRNA3* e *FAM13A*

A análise dos SNPs rs16969968 (*CHRNA5*), rs1051730 e rs6495309 (*CHRNA3*) e rs7671167 (*FAM13A*) foi feita através de PCR em tempo real, com o uso de kits comerciais (testes de discriminação TaqMan SNP) projetados por (<http://testgen.ru>, "TestGene" LLC Ulyanovsk, Rússia). Para realizar o experimento, a mistura de reação continha 8,5µl de DNA genômico (concentração 30 a 50ng/µl) e PCR Master Mix contendo 200 nM de cada dNTP, 67 mM Tris-HCl (pH 8,8 a 25 ° C), 16,6 mM (NH₄)₂ SO₄, 0,01% de Tween - 20, 2 mM de MgCl₂, 500 nM de primers (tabela 7), 250 nM de sondas fluorólicas e 1,5U de Taq polimerase (Thermo Fisher Scientific Inc., EUA), totalizando um volume final de 20 µl.

O PCR em tempo real foi realizado por desnaturação inicial durante 30 segundos a 60°C, seguido de 40 ciclos de 95°C por 10 segundos, 95°C por 15 segundos, anelamento durante 1 minuto, sendo que para cada SNP há uma temperatura diferente (*FAM13A*, 55°C; *CHRNA5*, 56°C; *CHRNA3*, 60°C) e extensão a 60°C por 30 segundos. O acúmulo do produto de PCR específico por hibridação e clivagem de sonda fluorogênica de duplo rótulo durante a amplificação foi detectada com o instrumento StepOne Plus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific). A determinação de fluorescência e genótipo foi determinada de acordo com o protocolo do equipamento citado acima (38).

Tabela 7. Sequência dos primers de amplificação e sondas fluorogênicas para PCR em tempo real. Fonte: (adaptado de Korytina et. al., 2016).

SNP	Sequência dos primers, 5'-3'	Sequência das sondas fluorogênicas, 5'-3'
FAM13A rs7671167	F- CTCAGAACACACATCAAC	FAM- aggtaaaTtcCaaAacataagg -BHQ-1
	R- CTTCCATGTCAACTAACG	VIC- aggtaaaTtcTaaAacataagg -BHQ-2
CHRNA5 rs16969968	F- AGTGGACCAAAATCTTCTA	FAM- aatagaatCgagcgagc -BHQ-1
	R- CCTTCATGATGTGTCTTG	VIC- aatagaatTgagcgagc -BHQ-2
CHRNA3 rs1051730	F- CAAGGACTATTGGGAGAGC	FAM- cccaggctacaacacgacatcaa -BHQ-1
	R- GGGATGATGAGGTTGATGG	VIC- cccaggctaTaaacacgacatcaa -BHQ-2
CHRNA3 rs6495309	F- CGTGGAAGATGTTCAAATCA	FAM- agccatcagggacaCgcaaattaaacca -BHQ-1
	R- TCTGGAGTGGCTATACCA	VIC- agccatcagggacaTgcaaattaaacca -BHQ-2

3.6 Análise estatística

Foi realizada a descrição das variáveis quantitativas por meio de valores média e desvio padrão, mediana e valores mínimos - máximos, a depender da tendência à normalidade, avaliada por meio do teste de Shapiro Wilk. Para as variáveis qualitativas foram apresentados valores absolutos e relativos.

Procedeu-se a comparação entre os grupos considerando: grupo do estudo (DPOC e tabagistas), grupo Tabagista (fumantes e ex-fumantes), classificação de COex (<6 ou ≥6), sub-análise de classificação de COex segundo classificação de tabagismo (fumantes e ex-fumantes). Para análise estatística considerou-se teste Qui-Quadrado e Exato de Fisher para dados qualitativos, e Teste t de Student e Mann-Whitney para comparação dos grupos em relação às variáveis quantitativas.

Para avaliar a correlação entre os alelos avaliados no estudo, foi proposta a análise de Correlação de Spearman.

Além disso foi desenvolvido um escore de mutações genotípicas. As frequências alélicas e genotípicas para os polimorfismos de *CYP2A6*, *FAM13A*,

CHRNA3 e *CHRNA5* foram classificadas em três grupos: 0 se wild-type, selvagem (wt), 1 se heterozigoto (ht) e 2 se homozigoto polimórfico (hp). O escore final foi desenvolvido a partir da soma dos resultados individuais dos sete polimorfismos mapeados, podendo variar entre 0 e 21. Foi utilizada apresentação gráfica para avaliar as diferenças medianas do escore de mutações genóticas e os grupos de interesse.

Utilizou-se de modelos de regressão logística, não ajustados e ajustados, para avaliação dos fatores associados à função pulmonar comprometida ($VEF_1/CVF < 70\%$) e modelos não ajustado para avaliar a relação direta entre as mutações e $COex \geq 6$.

Foi considerado um nível de significância de 5% e utilizado o software estatístico Stata, versão 15.1.

4 RESULTADOS

4.1 Pacientes Grupo DPOC

A coleta deste grupo iniciou-se em outubro de 2017 e foi finalizada em abril de 2019. Na figura 10 observa-se um fluxograma onde é possível visualizar a quantidade de pacientes recrutados no grupo DPOC, totalizando os indivíduos incluídos e excluídos do estudo.



Figura 10. Fluxograma amostral de pacientes do Grupo DPOC.

Em um total, foram entrevistados 385 pacientes no grupo de indivíduos portadores de DPOC, dos quais 265 foram incluídos em nosso estudo e 120 acabaram sendo excluídos, por critérios relatados no item 3.3.1. Dos 265 indivíduos incluídos, 17 nunca foram fumantes, 7 relataram fumar no momento da coleta (fumantes atuais) e 241 relataram serem ex-fumantes.

Na tabela 8 podemos observar as características demográficas, socioeconômicas e nutricionais dos pacientes portadores de DPOC.

Tabela 8. Características demográficas, socioeconômicas e nutricional dos pacientes diagnosticados com DPOC, segundo situação de fumar. São Paulo, 2022.

	Fumante			p valor
	Não fumante	atual	Ex- fumante	
Total	17	7	241	
Sexo				
Feminino	14(82.4)	1(14.3)	113(46.9)	0.003
Masculino	3(17.7)	6(85.7)	128(53.1)	
Idade				
Até 59 anos	5(29.4)	3(42.9)	50(20.8)	0.239
de 60 a 69 anos	7(41.2)	4(57.1)	108(44.8)	
70 anos ou mais	5(29.4)	0(0)	83(34.4)	
Raça/ cor da pele				
Branca	6(35.3)	6(85.7)	149(61.8)	0.056
Parda	9(52.9)	1(14.3)	67(27.8)	
Preta	1(5.9)	0(0)	24(10.0)	
Amarela	1(5.9)	0(0)	1(0.4)	
Escolaridade				
Até 3 anos	0(0)	2(28.6)	31(13.3)	0.287
de 4 a 7 anos	9(52.9)	1(14.2)	88(37.8)	
de 8 a 10 anos	2(11.8)	2(28.6)	37(15.9)	
11 anos ou mais	6(35.3)	2(28.6)	77(33.0)	
Peso (média, dp)	69.3(12.2)	58.1(5.0)	67.0(16.1)	0.278
Altura (média, dp)	1.62(0.1)	1.67(0.1)	1.63(0.1)	0.4
Índice de Massa Corpórea				
Eutrófico	5(29.4)	5(71.4)	96(39.8)	0.431
Baixo peso	1(5.9)	1(14.3)	28(11.6)	
Sobrepeso	6(35.3)	1(14.3)	74(30.7)	
Obesidade	5(29.4)	0(0)	43(17.8)	

Na tabela 9 observamos a descrição da função respiratória, informações sobre tabagismo e sintomas mais frequentes entre dos pacientes diagnosticados com DPOC.

Tabela 9. Descrição da função respiratória, hábito de fumar e sintomas mais frequentes entre dos pacientes diagnosticados com DPOC segundo status tabágico. São Paulo, 2022.

	Não tabagista	Tabagista	Ex-tabagista	p valor
Função pulmonar				
VEF ₁	1.21(0.92)	1.18(0.44)	1.02(0.49)	0.309
CVF	2.16(1.38)	2.43(1.06)	2.14(0.74)	0.688
VEF ₁ /CVF	0.55(0.13)	0.45(0.08)	0.47(0.11)	0.015
VEF₁/CVF (pré)				
Igual ou maior a 70%	2(11.8)	0(0)	10(4.2)	0.31
Menor que 70%	15(88.2)	5(100)	230(95.8)	
CAT (média, dp)	16(8.7)	17.5(6.4)	20.6(8.6)	0.233
Carga tabágica (mediana, mín-máx)	0(0)	26.8(21.4)	53(40.6)	0.001
Tabagismo passivo				
Sim, cônjuge	2(11.8)	0(0)	48(19.9)	0.486
Não foi fumante passivo	3(17.7)	1(14.3)	22(9.1)	
Sim, cônjuge e familiar	12(70.6)	6(85.7)	171(71.0)	
Exposição à biomassa				
Fogão à lenha	9(52.9)	0(0)	106(44.0)	0.217
Exposição ocupacional	1(5.9)	2(28.6)	20(8.3)	
Fogão à lenha e exposição ocupacional	1(5.9)	1(14.3)	30(12.5)	
Não teve exposição	6(35.3)	4(57.1)	85(35.3)	
Sintomas				
Expectoração crônica				
ausente	1(5.9)	37(33.0)	97(34.8)	0.037
presente	16(94.1)	75(67.0)	182(65.2)	
Tosse				
ausente	5(29.4)	7(100)	106(44.0)	0.006
presente	12(70.6)	0(0)	135(56.0)	
Exacerbação anual (mediana, mín-máx)	0(0-24)	0(0-10)	1(0-25)	0.288

Na tabela 10 observamos a frequência alélica dos polimorfismos avaliados em nosso estudo.

Tabela 10. Frequências alélicas dos polimorfismos de *CYP2A6*, *CHRNA3*, *CHRNA5* e *FAM13A*, em pacientes com DPOC. O alelo com polimorfismo é denominado alelo menor.

Gene refSNP	Alelo menor	Frequência alelo menor		Frequência alelo maior	
		Quant.	%	Quant.	%
<i>CHRNA5</i> rs16969968 G>A Asp>Asn	A	198	37,36	332	62,64
<i>CHRNA3</i> rs1051730 G>A Tyr>Tyr	A	202	38,11	328	61,89
<i>FAM13A</i> rs7671167 C>T	T	268	50,57	258	48,68
<i>CHRNA3</i> rs6495309 C>T	T	121	22,83	407	76,79
<i>CYP2A6</i> *2 rs1801272 T>A Leu>His	A	11	2,08	519	97,92
<i>CYP2A6</i> *1B Conversão gênica A>G	G	175	33,02	355	66,98
<i>CYP2A6</i> *5 rs5031017 C>A Gly>Val	A	2	0,38	528	99,62

Na tabela 11 observamos a frequência genotípica dos polimorfismos avaliados no estudo, dentro do grupo de pacientes com DPOC.

Tabela 11. Frequências genóticas dos polimorfismos de *CYP2A6*, *CHRNA3*, *CHRNA5* e *FAM13A* em pacientes com DPOC.

Variantes	Homozigoto selvagem		Heterozigoto		Homozigoto polimórfico		Sem informação	
	Quant.	%	Quant	%	Quant	%	Quant	%
<i>CHRNA5</i> rs16969968	97	36,60	138	52,08	30	11,32	0	0
<i>CHRNA3</i> rs1051730	92	34,72	144	54,34	29	10,94	0	0
<i>FAM13A</i> rs7671167	65	24,53	128	48,30	70	26,42	2	0,75
<i>CHRNA3</i> rs6495309	154	58,11	99	37,36	11	4,15	1	0,38
<i>CYP2A6*2</i> rs1801272	254	95,85	11	4,15	0	0	0	0
<i>CYP2A6*1B</i>	120	45,28	115	43,40	30	11,32	0	0
<i>CYP2A6*5</i> rs5031017	263	99,25	2	0,75	0	0	0	0

Nas tabelas 12 e 13 foi realizada uma avaliação dos genótipos em comparação com a carga tabágica e duração do tabagismo dos indivíduos do estudo.

Tabela 12. Descrição genotípica entre pacientes com DPOC participantes do estudo, segundo carga tabágica (n=248). São Paulo, 2022.

	Carga Tabágica (interquartil)	p valor
Avaliação genotípica		
CYP2A6*1B		
Homozigoto WT	43 (5-141)	0.265
Heterozigoto	43.3 (2-176)	
Homozigoto		
polimórfico	37.5 (11.3-90)	
CYP2A6*2		
Homozigoto WT	43 (1.5-176)	0.519
Heterozigoto	38.5 (35-92)	
Homozigoto		
polimórfico		
CYP2A6*5		
Homozigoto WT	42.5(1.5-185)	0.478
Heterozigoto	39.8 (34.5-45)	
Homozigoto		
polimórfico		
CHRNA5- rs16969968		
Homozigoto WT	41 (3-129)	0.79
Heterozigoto	43 (2.5-155)	
Homozigoto		
polimórfico	43 (20-88)	
CHRNA3 - rs1051730		
Homozigoto WT	40 (3-114)	0.645
Heterozigoto	43.3 (2.5-155)	
Homozigoto		
polimórfico	45 (20-88)	
FAM13A		
Homozigoto WT	47 (9.5-114)	0.369
Heterozigoto	42(3.7-153)	
Homozigoto		
polimórfico	40.5 (6-144)	
CHRNA3 - rs6495309		
Homozigoto WT	43.3 (3.7-176)	0.503
Heterozigoto	36 (5-129)	
Homozigoto		
polimórfico	28.5 (18-87)	

Tabela 13. Descrição genotípica entre pacientes com DPOC participantes do estudo, segundo tempo de tabagismo (n=248). São Paulo, 2022.

	Duração do tabagismo (DP)	p valor
Avaliação genotípica		
CYP2A6*1B		
Homozigoto WT	38.0 (11.2)	0.58
Heterozigoto	36.9 (12.7)	
Homozigoto polimórfico	35.5 (11.9)	
CYP2A6*2		
Homozigoto WT	37.1 (11.9)	0.331
Heterozigoto	40.8 (11.9)	
Homozigoto polimórfico		
CYP2A6*5		
Homozigoto WT	37.3 (11.9)	0.201
Heterozigoto	26.5 (4.5)	
Homozigoto polimórfico		
CHRNA5- rs16969968		
Homozigoto WT	35.8 (13.6)	0.182
Heterozigoto	37.5 (10.9)	
Homozigoto polimórfico	40.5 (9.3)	
CHRNA3 - rs1051730		
Homozigoto WT	35.4 (13.6)	0.125
Heterozigoto	37.8 (11.0)	
Homozigoto polimórfico	40.3 (9.5)	
FAM13A		
Homozigoto WT	40.2 (12.3)	0.055
Heterozigoto	36.9 (11.4)	
Homozigoto polimórfico	35.1 (11.8)	
CHRNA3 - rs6495309		
Homozigoto WT	38.3 (10.5)	0.049
Heterozigoto	36.2 (12.9)	
Homozigoto polimórfico	29.6 (16.7)	

Ao comparar pacientes com diagnóstico de DPOC e os resultados de COex, nota-se que dentre aqueles que relataram não fumar, 35.3%

apresentaram resultados superiores à 6 no COex. Esse percentual foi maior entre aqueles que assumiam o hábito de fumar (6 pacientes com COex igual ou superior à 6). Cerca de um a cada quatro pacientes que reportava ser ex-fumante apresentou valores indicativos para a manutenção do hábito de fumar. Os resultados podem ser vistos na tabela 14 e foram estatisticamente significativos (p 0.003).

Tabela 14. Distribuição de pacientes DPOC com resultado COEx igual ou superior à 6 e menor que 6 em relação ao relato frente ao hábito tabágico. São Paulo, 2022.

	COex ≥6	COex <6	p valor
Não tabagista	6 (35.3)	11 (64.7)	0.003
Tabagista	6 (85.7)	1 (14.3)	
Ex-tabagista	63 (26.1)	178 (73.9)	

A tabela 15 apresenta os resultados obtidos no teste de COex em associação com as mutações genóticas mais frequentes entre pacientes que reportaram ser ex-fumantes (n=241). Não foram observadas associação entre alterações genóticas e resultados do COex em nenhuma análise realizada, inclusive a análise que considera a diferença média no escore de mutações genóticas.

Tabela 15. Descrição das mutações genotípicas mais frequentes entre pacientes com DPOC ex-tabagistas participantes do estudo, segundo resultado do COex (n=241). São Paulo, 2022.

	COex ≥6	COex <6	p valor
Avaliação genotípica			
CYP2A6*1B			
Homozigoto WT	30(27.3)	80(72.7)	0.139
Heterozigoto	30(29.1)	73(70.9)	
Homozigoto polimórfico	3(10.7)	25(89.3)	
CYP2A6*2			
Homozigoto WT	59(25.5)	172(74.5)	0.293
Heterozigoto	4(40.0)	6(60.0)	
Homozigoto polimórfico	-	-	
CYP2A6*5			
Homozigoto WT	62(25.9)	177(74.1)	0.455
Heterozigoto	1(50.0)	1(50.0)	
Homozigoto polimórfico	-	-	
CHRNA5 - rs16969968			
Homozigoto WT	21(23.9)	67(76.1)	0.832
Heterozigoto	35(27.8)	91(72.2)	
Homozigoto polimórfico	7(25.9)	20(74.1)	
CHRNA3 - rs1051730			
Homozigoto WT	19(22.6)	65(77.4)	0.669
Heterozigoto	37(28.2)	94(71.8)	
Homozigoto polimórfico	7(26.9)	19(73.1)	
FAM13A			
Homozigoto WT	13(22.8)	44(77.2)	0.767
Heterozigoto	31(26.7)	85(73.3)	
Homozigoto polimórfico	19(28.8)	47(71.2)	
CHRNA3 - rs6495309			
Homozigoto WT	38(27.1)	102(72.9)	0.634
Heterozigoto	24(26.7)	66(73.3)	
Homozigoto polimórfico	1(10.0)	9(90.0)	
Score médio de mutações genotípicas	10.7 (1.5)	10.7 (1.6)	0.741

4.2 Grupo Tabagista

A coleta deste grupo iniciou-se em abril de 2018 e foi concluída em fevereiro de 2020. Na figura 11 apresentamos um fluxograma onde é possível visualizar a quantidade de pacientes recrutados no grupo Tabagista, totalizando os indivíduos incluídos e excluídos do estudo.

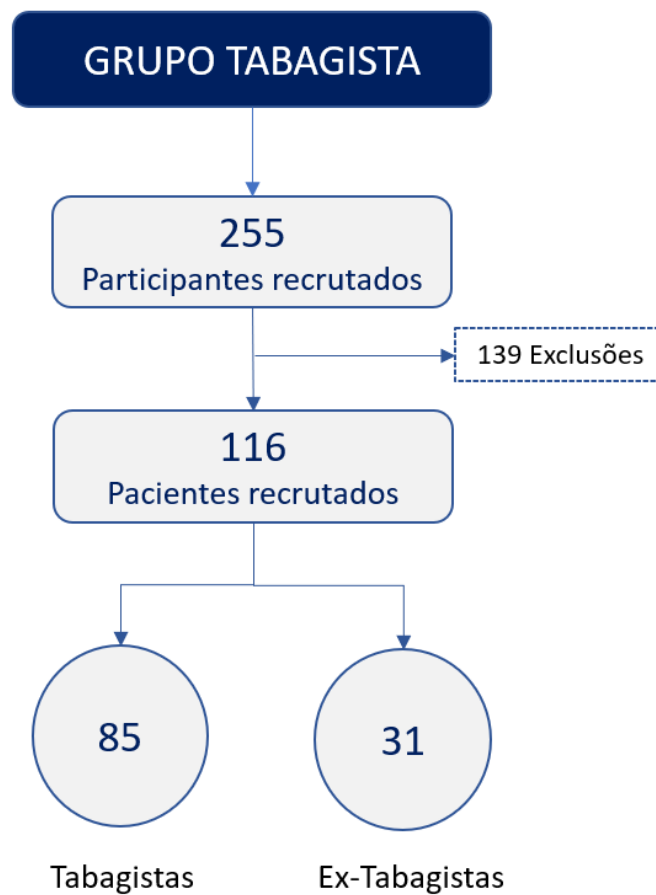


Figura 11. Fluxograma amostral de pacientes do Grupo Tabagista

Em um total, foram entrevistados 255 pacientes no grupo de indivíduos Tabagistas, dos quais 116 foram incluídos em nosso estudo e 139 acabaram sendo excluídos, por critérios relatados no item 3.3.2. Dos 116 indivíduos incluídos, 85 relataram fumar e 31 declararam-se ex-fumantes.

Na tabela 16 podemos observar as características demográficas, socioeconômicas e nutricionais dos pacientes Tabagistas.

Tabela 16. Características demográficas, socioeconômicas e de nutricional dos pacientes tabagistas participantes do estudo.

	Total	Tabagista	Ex-fumante	p valor
Total	116	85	31	
Sexo				
Feminino	80	60(70.6)	20(64.5)	0.651
Masculino	36	25(29.4)	11(35.5)	
Idade				
Até 59 anos	91	67(78.8)	24(77.4)	0.89
de 60 a 69 anos	23	16(18.8)	7(22.6)	
70 anos ou mais	2	2(2.4)	0(0)	
Raça/cor da pele				
Branca	54	35(41.2)	19(61.2)	0.035
Parda	45	39(45.9)	6(19.4)	
Preta	15	9(10.6)	6(19.4)	
Amarela	2	2(2.3)	0(0)	
Escolaridade				
Até 3 anos	3	2(2.4)	1(3.2)	0.506
de 4 a 7 anos	17	13(15.5)	4(12.9)	
de 8 a 10 anos	16	14(16.7)	2(6.5)	
11 anos ou mais	79	55(64.4)	24(77.4)	
Peso (média, dp)	72.2	71(17.0)	75(17.7)	0.239
Altura (média, dp)	1.64	1.64(0.09)	1.66(0.10)	0.35
Índice de Massa Corpórea				
Eutrófico	48	33(38.8)	15(48.4)	0.126
Baixo peso	5	4(4.7)	1(3.2)	
Sobrepeso	33	29(34.1)	4(12.9)	
Obesidade	30	19(22.4)	11(35.5)	

Na tabela 17 observamos a descrição da função respiratória, hábito de fumar e sintomas mais frequentes entre os tabagistas, segundo hábito de fumar.

Tabela 17. Descrição da função respiratória, tabagismo e sintomas mais frequentes entre pacientes participantes tabagistas do estudo.

	Total	Tabagista	Ex-fumante	p valor
Função pulmonar				
VEF ₁	2.70	2.67(0.75)	2.78(0.75)	0.485
CVF	3.38	3.35(0.89)	3.48(0.94)	0.499
VEF ₁ /CVF	0.80	0.79(0.04)	0.80(0.05)	0.664
VEF₁/VCF (pré)				
Igual ou maior a 70%	116	85(100)	31(100)	-
Menor que 70%	0	0(0)	0(0)	
CAT (média, dp)	11.3	12.5(7.7)	7.2(6.2)	0.003
Carga tabágica (mediana, mín-máx)	36.8	32.5(21.3)	48.6(27.3)	0.001
Tabagismo passivo				
Sim, familiar	27	21(24.7)	6(19.4)	0.644
Sim, cônjuge	15	11(12.9)	4(12.9)	
Não foi fumante passivo	71	50(58.8)	21(67.7)	
Sim, cônjuge e familiar	3	3(3.5)	0(0.0)	
Exposição à biomassa				
Fogão à lenha	31	23(27.1)	8(25.8)	0.926
Exposição ocupacional	0	0(0)	0(0)	
Fogão à lenha e exposição ocupacional	5	4(4.7)	1(3.2)	
Não teve exposição	80	58(68.2)	22(71.0)	
Sintomas				
Expectoração crônica				
ausente	28	26(30.6)	2(6.5)	0.007
presente	88	59(69.4)	29(93.5)	
Tosse				
ausente	33	30(35.3)	3(9.7)	0.007
presente	83	55(64.7)	28(90.3)	

Na tabela 18 observamos a frequência alélica dos polimorfismos avaliados em nosso estudo, em pacientes do Grupo Tabagista.

Tabela 18. Frequências alélicas dos polimorfismos de *CYP2A6*, *CHRNA3*, *CHRNA5* e *FAM13A*, em pacientes do Grupo Tabagista. O alelo com polimorfismo é denominado alelo menor.

Gene refSNP	Alelo menor	Frequência alelo menor		Frequência alelo maior	
		Quant.	%	Quant.	%
<i>CHRNA5</i> rs16969968 G>A Asp>Asn	A	37	23,13	123	76,88
<i>CHRNA3</i> rs1051730 G>A Tyr>Tyr	A	69	31,36	151	68,64
<i>FAM13A</i> rs7671167 C>T	T	106	51,46	100	48,54
<i>CHRNA3</i> rs6495309 C>T	T	55	26,44	153	73,56
<i>CYP2A6</i> *2 rs1801272 T>A Leu>His	A	6	2,8	208	97,2
<i>CYP2A6</i> *1B Conversão gênica A>G	G	62	30,1	144	69,9
<i>CYP2A6</i> *5 rs5031017 C>A Gly>Val	A	3	1,46	203	98,54

Na tabela 19 observamos a frequência genotípica dos polimorfismos avaliados no estudo, em pacientes do Grupo Tabagista.

Tabela 19. Frequências genóticas dos polimorfismos de *CYP2A6*, *CHRNA3*, *CHRNA5* e *FAM13A* em pacientes do Grupo Tabagista.

Variantes	Homozigoto selvagem		Heterozigoto		Homozigoto polimórfico		Sem informação	
	Quant.	%	Quant.	%	Quant.	%	Quant.	%
<i>CHRNA5</i> rs16969968	61	51,72	34	2,59	17	14,66	4	3,45
<i>CHRNA3</i> rs1051730	59	50,86	33	28,45	18	15,52	4	3,45
<i>FAM13A</i> rs7671167	53	19,83	54	46,55	26	22,41	13	11,21
<i>CHRNA3</i> rs6495309	56	48,28	41	35,34	7	6,03	12	10,34
<i>CYP2A6*2</i> rs1801272	101	87,07	6	5,17	0	0	9	7,76
<i>CYP2A6*1B</i>	51	43,97	42	36,21	10	8,62	13	11,21
<i>CYP2A6*5</i> rs5031017	100	86,21	3	2,59	0	0	13	11,21

Na tabela 20 observamos a descrição genotípica entre pacientes do grupo Tabagista participantes do estudo, segundo carga tabágica.

Tabela 20. Descrição das mutações genotípicas mais frequentes entre participantes tabagistas do estudo, segundo carga tabágica (n=116). São Paulo, 2022.

	Carga Tabágica (interquartil)	p valor
Avaliação genotípica		
CYP2A6*1B		
Homozigoto WT	28.7(17-43)	0.65
Heterozigoto	32.2(19-57)	
Homozigoto polimórfico	27.5(21.5-54)	
CYP2A6*2		
Homozigoto WT	31.3(17.5-50.5)	0.674
Heterozigoto	30.5(22-42)	
Homozigoto polimórfico		
CYP2A6*5		
Homozigoto WT	30.5(17.4-47)	0.558
Heterozigoto	24(19.5-84)	
Homozigoto polimórfico		
CHRNA5- rs16969968		
Homozigoto WT	29(16.8-46)	0.45
Heterozigoto	36(22-51)	
Homozigoto polimórfico	34(21.7-46)	
CHRNA3 - rs1051730		
Homozigoto WT	27.3(15-47)	0.585
Heterozigoto	35.3(22-51)	
Homozigoto polimórfico	34(21.8-46)	
FAM13A		
Homozigoto WT	34(17-64.5)	0.568
Heterozigoto	30(20-45)	
Homozigoto polimórfico	39.5(21.8-57)	
CHRNA3 - rs6495309		
Homozigoto WT	30(19-45)	0.549
Heterozigoto	38(20-62)	
Homozigoto polimórfico	33.8(11.7-84)	

Na tabela 21 observamos a descrição genotípica entre pacientes do grupo Tabagista participantes do estudo, segundo tempo de tabagismo.

Tabela 21. Descrição das mutações genótípicas mais frequentes entre participantes tabagistas do estudo, segundo tempo de tabagismo (n=116). São Paulo, 2022.

	Duração do tabagismo (DP)	p valor
Avaliação genotípica		
CYP2A6*1B		
Homozigoto WT	36.9(12.3)	0.614
Heterozigoto	37.7(11.1)	
Homozigoto polimórfico	-	
CYP2A6*2		
Homozigoto WT	37.6(11.7)	0.713
Heterozigoto	-	
Homozigoto polimórfico	-	
CYP2A6*5		
Homozigoto WT	36.9(11.5)	-
Heterozigoto	48(2.0)	
Homozigoto polimórfico	-	
CHRNA5- rs16969968		
Homozigoto WT	37.7(13.1)	0.945
Heterozigoto	38.9(7.5)	
Homozigoto polimórfico	36.0(18.4)	
CHRNA3 - rs1051730		
Homozigoto WT	37.7(13.1)	0.944
Heterozigoto	38.9(7.5)	
Homozigoto polimórfico	36.0(18.4)	
FAM13A		
Homozigoto WT	40(11.2)	0.743
Heterozigoto	36.1(13.8)	
Homozigoto polimórfico	38.9(7.2)	
CHRNA3 - rs6495309		
Homozigoto WT	36.4(11.1)	0.627
Heterozigoto	38.3(13.3)	
Homozigoto polimórfico	43.7(3.2)	

4.3 Comparação entre os grupos

Posteriormente foi realizada uma análise onde os grupos DPOC e Tabagista foram analisados em conjunto. Observamos abaixo os resultados obtidos.

Em um total 381 pacientes foram incluídos em nosso estudo, sendo 265 alocados no grupo com DPOC e 116 tabagistas sem DPOC. A maioria da

amostra era do sexo feminino com maior proporção de mulheres no grupo de participantes tabagistas (69%) e com distribuição similar de sexo entre o grupo DPOC ($<0,001$).

A composição da amostra apresenta ampla distribuição etária, sendo mais prevalente o grupo de indivíduos com até 59 anos. A mediana etária foi de 62 anos, variando entre 26 e 93 anos. O grupo DPOC apresentava indivíduos com maior faixa etária que o grupo Tabagista ($p<0,001$). A maioria dos participantes se autodeclarou branco e 164 pessoas informaram possuir mais de 10 anos de escolaridade.

Foi observada maior proporção de baixo peso entre pacientes do grupo DPOC e maior proporção de obesos entre o grupo tabagista ($p 0,077$). Dados completos sobre as características demográficas, socioeconômicas e nutricionais encontram-se na tabela 22.

Tabela 22. Características demográficas, socioeconômicas e nutricional dos pacientes participantes do estudo, segundo grupo.

	Total	DPOC	Tabagistas	p valor
Total	381	265(69.5)	116(30.5)	-
Sexo				
Feminino	208	128(48.3)	80(69.0)	<0.001
Masculino	173	137(51.7)	36(31.0)	
Idade				
Até 59 anos	149	58(21.9)	91(78.5)	<0.001
de 60 a 69 anos	142	119(44.9)	23(19.8)	
70 anos ou mais	90	88(33.2)	2(1.7)	
Raça/ cor da pele				
Branca	215	161(60.8)	54(46.6)	0.074
Parda	122	77(29.1)	45(38.8)	
Preta	40	25(9.4)	15(12.9)	
Amarela	4	2(0.7)	2(1.7)	
Escolaridade				
Até 3 anos	36	33(12.8)	3(2.6)	<0.001
de 4 a 7 anos	115	98(38.1)	17(14.8)	
de 8 a 10 anos	57	41(16.0)	16(13.9)	
11 anos ou mais	164	85(33.1)	79(68.7)	
Peso (média, dp)	68.6	66.9(15.8)	72.2(17.3)	0.004
Altura (média, dp)	1.64	1.63(0.09)	1.64(0.09)	0.21
Índice de Massa Corpórea				
Eutrófico	154	106(40)	48(41.4)	0.077
Baixo peso	35	30(11.3)	5(4.3)	
Sobrepeso	114	81(30.6)	33(28.5)	
Obesidade	78	48(18.1)	30(25.8)	

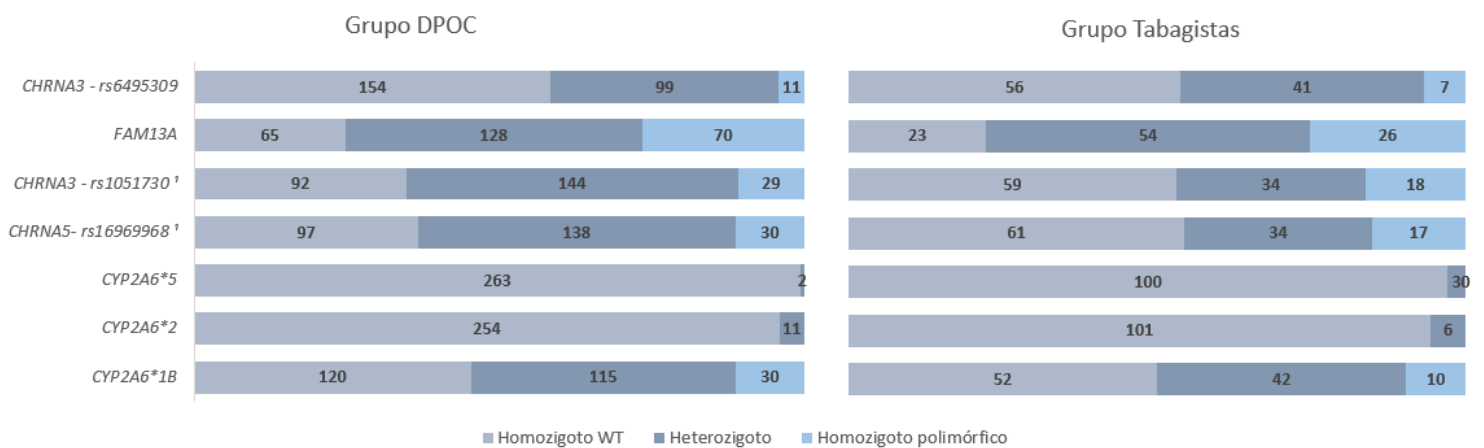
Por definição, os grupos também apresentaram diferenças contundentes em relação à função pulmonar e exposições ao tabaco e micropartículas. A função pulmonar avaliada pela relação VEF_1/CVF indica pior função pulmonar nos indivíduos do grupo DPOC. Como esperado, todos os participantes desse grupo apresentaram obstrução marcada por VEF_1/CVF menor que 0,7 ($p<0,001$). A CAT média apresentada pelo grupo DPOC foi de 20,3, aproximadamente o dobro do resultado observado no grupo tabagista ($p<0,001$).

Foi observado também que enquanto 26,7% dos participantes do grupo Tabagista reportava a cessação do tabagismo, 90,9% dos participantes do grupo DPOC relatavam ser ex-tabagistas (<0,001). De maneira similar, nota-se maior prevalência de sintomas como tosse e expectoração em pacientes do grupo DPOC (Tabela 23).

Tabela 23. Descrição da função respiratória, características do tabagismo e sintomas mais frequentes entre pacientes participantes do estudo.

	Total	DPOC	Tabagistas	p valor
Função pulmonar				
VEF ₁	1.55(0.97)	1.04(0.52)	2.70(0.75)	<0.001
CVF	2.53(1.00)	2.15(0.80)	3.38(0.90)	<0.001
VEF ₁ /CVF	0.57(0.18)	0.48(0.12)	0.78(0.04)	<0.001
VEF₁/CVF (pré)				
Igual ou maior a 70%	128	12(4.6)	116(100)	<0.001
Menor que 70%	250	250(95.4)	0(0)	
CAT (média, dp)		20.3(8.6)	11.3(7.7)	<0.001
Hábito tabágico				
Não fumante	17	17(6.4)	0(0)	<0.001
Fumante ativo	112	7(2.6)	85(73.3)	
Ex-fumante	279	241(90.9)	31(26.7)	
Carga tabágica (mediana, mín-máx)		42.5(0.2-228)	36.8(24.0)	0.003
Tabagismo passivo				
Sim, familiar	82	60(18.9)	27(23.3)	0.023
Sim, conjugê	47	26(9.8)	15(12.9)	
Não foi fumante passivo	275	189(71.3)	71(61.2)	
Sim, conjugê e familiar	4	0(0)	3(2.6)	
Exposição à biomassa				
Fogão à lenha	155	115(43.4)	31(26.7)	<0.001
Exposição ocupacional	23	23(8.7)	0(0)	
Fogão à lenha e exposição ocupacional	41	32(12.1)	5(4.3)	
Não teve exposição	189	95(35.8)	80(69.0)	
Sintomas				
Expectoração crônica				
ausente	273	165(62.3)	88(75.9)	0.01
presente	135	100(37.7)	28(24.1)	
Tosse				
ausente	249	147(55.5)	83(71.6)	0.003
presente	159	118(44.5)	33(28.5)	
Exacerbação (mediana, mín-máx)	265	1(0-25)	-	

As frequências genotípicas para os polimorfismos avaliados no presente estudo, segundo grupo, apresentam-se na figura 12. Foi observada uma diferença significativa na comparação entre grupos para os polimorfismos de *CHRNA5* rs16969968 e *CHRNA3* rs1051730, sendo que as demais comparações foram similares do ponto de vista estatístico.



¹ Comparações que apresentaram diferença estatisticamente significantes (p < 0,001)

Figura 12. Frequências genotípicas dos polimorfismos avaliados, segundo grupo

4.4 Subamostra de fumantes e ex-fumantes

A subamostra de fumantes e ex-fumantes é composta por 364 participantes, com 92 indivíduos relatando tabagismo ativo. Quando analisadas as diferenças entre os grupos de fumantes e ex-fumantes, observamos que as amostras são similares do ponto de vista de peso, altura e análise nutricional, definida pelo IMC, além de raça autodeclarada. Entretanto podemos observar divergência nas demais características sociodemográficas, apresentadas na tabela 24.

Tabela 24. Características demográficas, socioeconômicas e nutricionais dos pacientes participantes do estudo, segundo tabagismo. São Paulo, 2022.

	Total	Fumante	Ex-fumante	p valor
Total	364	92	272	
Sexo	194	61(66.3)	133(48.9)	0.004
Feminino	170	31(33.7)	139(51.1)	
Masculino				
Idade				
Até 59 anos	144	70(76.1)	74(27.2)	<0.001
de 60 a 69 anos	135	20(21.7)	115(42.3)	
70 anos ou mais	85	2(2.2)	83(30.5)	
Raça/ cor da pele				
Branca	209	41(44.6)	168(61.8)	0.006
Parda	113	40(43.5)	73(26.8)	
Preta	39	9(9.8)	30(11.0)	
Amarela	3	2(2.2)	1(0.4)	
Escolaridade				
Até 3 anos	36	4(4.4)	32(12.1)	<0.001
de 4 a 7 anos	106	14(15.4)	92(34.9)	
de 8 a 10 anos	55	16(17.6)	39(14.7)	
11 anos ou mais	158	57(62.6)	101(38.3)	
Peso (média, dp)	68.5	70.0(16.8)	67.9(16.5)	0.304
Altura (média, dp)	1.63	1.64(0.10)	1.63(0.09)	0.463
Índice de Massa Corpórea				
Eutrófico	149	38(41.3)	111(40.8)	0.495
Baixo peso	34	5(5.4)	29(10.7)	
Sobrepeso	108	30(32.6)	78(28.7)	
Obesidade	73	19(20.7)	54(19.8)	

Dentre os indivíduos que se declararam fumantes, podemos observar maior prevalência de mulheres (n=61) e o grupo etário mais frequente é composto por pessoas de até 59 anos (76,1%). Já no grupo de indivíduos ex-fumantes existe maior proporção de idosos. Foi identificada diferença estatística em relação à variável de escolaridade ($p < 0,001$), com pessoas com alto nível de escolaridade (62,6% com 11 anos ou mais) entre os fumantes. Os grupos são estatisticamente similares segundo peso, altura e IMC.

Ao observarmos a função pulmonar, o grupo de indivíduos ex-fumantes destaca-se pelo pior desempenho na avaliação da relação VEF_1/CVF , com 230

peças apresentando resultado inferior a 70%, em paralelo com 15,3% (n=41) da amostra de indivíduos ex-fumantes ($p < 0,001$). Os valores médios de CAT foram de 7,21 entre ex-fumantes e de 12,5 entre fumantes ($< 0,001$) e a carga tabágica também foi maior entre os ex-fumantes na comparação ($< 0,001$).

Quanto à exposição à biomassa, a mais frequente foi em relação ao fogão à lenha, totalizando 25% entre fumantes e 41,9% entre os ex-fumantes ($p < 0,001$).

Não foi observada diferença estatística em relação aos sintomas apresentados (tosse e expectoração), conforme apresentado na tabela 25.

Tabela 25. Descrição da função respiratória, hábito de fumar e sintomas mais frequentes entre pacientes participantes do estudo, segundo tabagismo.

	Total	Fumante	Ex-fumante	p valor
Função pulmonar	361	90(24.9)	271(75.1)	
VEF₁	1.56(1.0)	2.59(0.8)	1.22(0.8)	<0.001
CVF	2.54(1.0)	3.29(0.9)	2.30(0.9)	<0.001
VEF₁/CVF	0.57(0.2)	0.77(0.1)	0.61(0.01)	<0.001
VEF₁/CVF (pré)				
Igual ou maior a 70%	126	85(94.4)	41(15.3)	<0.001
Menor que 70%	235	5(5.6)	230(84.8)	
CAT (média, dp)	17.1	12.5(7.7)	7.21(6.2)	<0.001
Carga tabágica (mediana, mín-máx)	47.4(36.7)	32.1(21.2)	52.5(39.3)	<0.001
Tabagismo passivo				
Sim, familiar	75	21(22.8)	54(19.9)	0.012
Sim, conjugê	38	12(13.0)	26(9.6)	
Não foi fumante passivo	248	56(60.9)	192(70.6)	
Sim, conjugê e familiar	3	3(3.3)	0(0.0)	
Exposição à biomassa				
Fogão à lenha	137	23(25.0)	114(41.9)	<0.001
Exposição ocupacional	22	2(2.2)	20(7.4)	
Fogão à lenha e exposição ocupacional	36	5(5.4)	31(11.4)	
Não teve exposição	169	62(67.4)	107(39.3)	
Sintomas				
Expectoração crônica				
ausente	127	32(34.8)	95(34.9)	0.98
presente	237	60(65.2)	177(65.1)	
Tosse				
ausente	146	37(40.2)	109(40.1)	0.981
presente	218	55(59.8)	163(59.9)	

Na avaliação dos genótipos apenas *CHRNA3* rs6495309 apresentou diferença entre os grupos, com maior prevalência de indivíduos homozigotos wt entre fumantes e heterozigoto entre ex-fumantes (p 0,007) (Tabela 26).

Tabela 26. Descrição das mutações genóticas mais frequentes entre pacientes participantes do estudo, segundo tabagismo.

	Total	Tabagista	Ex-fumante	p valor
Avaliação genotípica				
CYP2A6*1B				
Homozigoto wt	163	39(48.8)	124(45.8)	0.853
Heterozigoto	150	32(40.0)	118(43.5)	
Homozigoto polimórfico	38	9(11.2)	29(10.7)	
CYP2A6*2				
Homozigoto WT	339	79(94.1)	260(95.9)	0.465
Heterozigoto	16	5(5.9)	11(4.1)	
Homozigoto polimórfico	0	0(0)	0(0)	
CYP2A6*5				
Homozigoto WT	346	79(96.3)	367(99.3)	0.051
Heterozigoto	5	3(3.7)	2(0.7)	
Homozigoto polimórfico	0	0(0)	0(0)	
CHRNA5 - rs16969968				
Homozigoto WT	150	43(48.3)	107(39.5)	0.019
Heterozigoto	165	30(33.7)	135(49.8)	
Homozigoto polimórfico	45	16(18.0)	29(10.7)	
CHRNA3 - rs1051730				
Homozigoto WT	202	48(59.3)	157(57.0)	0.929
Heterozigoto	132	29(35.8)	103(38.2)	
Homozigoto polimórfico	17	4(4.9)	13(4.8)	
FAM13A				
Homozigoto WT	82	18(22.2)	64(23.9)	0.687
Heterozigoto	175	44(54.3)	131(48.9)	
Homozigoto polimórfico	92	19(23.5)	73(27.2)	
CHRNA3 - rs6495309				
Homozigoto WT	144	41(46.6)	103(38.0)	0.007
Heterozigoto	170	30(34.1)	140(51.7)	
Homozigoto polimórfico	45	17(19.3)	28(10.3)	

Na tabela 27 observamos a comparação de dados sociodemográficos e nutricionais de participantes do estudo com COex<6 e COex≥6. Exceto pela raça autodeclarada, onde 50% da amostra de fumantes com COex≥6 se declararam pretos (n=7) ou pardos (n=39), as demais variáveis não

apresentaram significância estatística. Esse fato é justificado pelo baixo poder amostral e se repete nas características de hábitos de fumar (tabela 28) e na análise das características genéticas (tabela 29). Podemos observar que 94,6% dos declarados fumantes atuais tiveram a medida de COex \geq 6 ppm, confirmando a informação obtida o que é condizente com a sensibilidade do método de avaliação do tabagismo.

Tabela 27. Características demográficas, socioeconômicas e nutricional dos pacientes fumantes participantes do estudo, segundo classificação COex.

	Total	COex \geq6	COex <6	p valor
Total	92	87(94.6)	5(5.4)	
Sexo				
Feminino	61	58(66.7)	3(60.0)	1.000
Masculino	31	29(33.3)	2(40.0)	
Idade				
Até 59 anos	70	67(77.0)	3(60.0)	0.381
de 60 a 69 anos	20	18(20.7)	2(40.0)	
70 anos ou mais	2	2(2.3)	0(0)	
Raça/ cor da pele				
Branca	41	39(44.8)	2(40.0)	0.212
Parda	40	39(44.8)	1(20.0)	
Preta	9	7(8.1)	2(40.0)	
Amarela	2	2(2.3)	0(0.0)	
Escolaridade				
Até 3 anos	4	4(4.6)	0(0.0)	0.514
de 4 a 7 anos	14	14(16.3)	0(0.0)	
de 8 a 10 anos	16	14(16.3)	2(40.0)	
11 anos ou mais	57	54(62.8)	3(60.0)	
Peso (média, dp)	70	70.4(17.1)	63.0(9.0)	0.338
Altura (média, dp)	1.64	1.64(0.01)	1.61(0.06)	0.443
Índice de Massa Corpórea				
Eutrófico	38	36(41.4)	2(40.0)	0.577
Baixo peso	5	5(5.8)	0(0.0)	
Sobrepeso	30	27(31.0)	3(60.0)	
Obesidade	19	19(21.8)	0(0.0)	

Tabela 28. Descrição da função respiratória, tabagismo e sintomas mais frequentes entre pacientes fumantes participantes do estudo segundo classificação COex.

	Total	COex ≥6	COex <6	p valor
Função pulmonar				
VEF ₁	2.59	2.56(0.81)	3.04(0.57)	0.243
CVF	3.29	3.27(0.92)	3.81(0.84)	0.254
VEF ₁ /CVF	0.78	0.77(0.09)	0.81(0.04)	0.5
VEF₁/CVF (pré)				
Menor que 70%	5	5(5.8)	4(100)	1.000
Igual ou maior a 70%	85	81(94.2)	0(0.0)	
CAT (média, dp)	12.6	12.5(7.6)	17.0(8.66)	0.317
Carga tabágica (mediana, mín-máx)	32.1	32.8(21.4)	18.8(14.2)	0.153
Tabagismo passivo				
Sim, familiar	21	21(24.1)	0(0.0)	0.583
Sim, cônjuge	12	11(12.6)	1(20.0)	
Não foi fumante passivo	56	52(59.8)	4(80.0)	
Sim, cônjuge e familiar	3	3(3.5)	0(0.0)	
Exposição à biomassa				
Fogão à lenha	23	22(25.3)	1(20.0)	0.151
Exposição ocupacional	2	1(1.2)	1(20.0)	
Fogão à lenha e exposição ocupacional	5	5(5.7)	0(0.0)	
Não teve exposição	62	59(67.8)	3(60.0)	
Sintomas				
Expectoração crônica				
ausente	32	20(34.5)	2(40.0)	1.000
presente	60	57(65.5)	3(60.0)	
Tosse				
ausente	37	35(40.2)	2(40.0)	1.000
presente	55	52(59.8)	3(60.0)	

Tabela 29. Descrição das mutações genótípicas mais frequentes entre pacientes participantes do estudo, segundo resultados de COex entre pacientes fumantes.

	Total	COex ≥6	COex<6	p valor
Avaliação genotípica				
CYP2A6*1B				
Homozigoto WT	39	37(49.3)	2(40.0)	0.811
Heterozigoto	32	29(38.7)	3(60.0)	
Homozigoto polimórfico	9	9(12.0)	0(0.0)	
CYP2A6*2				
Homozigoto WT	79	75(94.9)	4(80.0)	0.270
Heterozigoto	5	4(5.1)	1(20.0)	
CYP2A6*5				
Homozigoto WT	79	74(96.1)	5(100)	1.000
Heterozigoto	3	3(3.9)	0(0.0)	
CHRNA5- rs16969968				
Homozigoto WT	43	39(45.9)	4(100)	0.172
Heterozigoto	30	30(35.3)	0(0.0)	
Homozigoto polimórfico	16	16(18.8)	0(0.0)	
CHRNA3 - rs1051730				
Homozigoto WT	41	37(44.1)	4(100)	0.132
Heterozigoto	30	30(35.7)	0(0.0)	
Homozigoto polimórfico	17	17(20.2)	0(0.0)	
FAM13A - rs7671167				
Homozigoto WT	18	17(22.1)	1(25.0)	1.000
Heterozigoto	44	42(54.6)	2(50.0)	
Homozigoto polimórfico	19	18(23.3)	1(25.0)	
CHRNA3 - rs6495309				
Homozigoto WT	48	46(59.7)	2(50.0)	0.201
Heterozigoto	29	28(36.4)	1(25.0)	
Homozigoto polimórfico	4	3(3.9)	1(25.0)	

Nas tabelas 30, 31 e 32 observamos a reprodução da visão da diferença de COex, agora entre participantes do estudo classificados como ex-fumantes (n=272).

Apesar de melhor representatividade dos grupos devido ao tamanho amostral desse extrato, não foram observadas diferenças estatísticas de dados sociodemográficos, nutricionais (Tabela 30), características de função pulmonar e hábito de fumar (Tabela 31) ou mesmo variações genéticas (Tabela 32) na análise proposta.

Tabela 30. Características demográficas, socioeconômicas e de nutricional dos pacientes ex-fumantes participantes do estudo, segundo classificação COex.

	Total	COex ≥6	COex<6	p valor
Total	272	67 (24,6%)	205 (75,45%)	
Sexo				
Feminino	133	34(50.8)	99(48.3)	0.779
Masculino	139	33(49.2)	106(51.7)	
Idade				
Até 59 anos	74	17(25.4)	57(27.8)	0.25
de 60 a 69 anos	115	34(50.7)	81(39.5)	
70 anos ou mais	83	16(23.9)	67(32.7)	
Raça/ cor da pele				
Branca	168	47(70.2)	121(59.0)	0.23
Parda	73	12(17.9)	61(29.8)	
Preta	30	8(11.9)	22(10.7)	
Amarela	1	0(0.0)	1(0.5)	
Escolaridade				
Até 3 anos	32	7(10.8)	78(39.2)	0.097
de 4 a 7 anos	92	19(29.2)	23(11.6)	
de 8 a 10 anos	39	16(24.6)	73(36.7)	
11 anos ou mais	101	23(35.4)	25(12.6)	
Peso (média, dp)	68	66.5(13.0)	68.5(17.5)	0.403
Altura (média, dp)	1.63	1.64(0.09)	1.63(0.09)	0.654
Índice de Massa Corpórea				
Eutrófico	115	34(50.0)	81(38.4)	0.189
Baixo peso	29	6(8.8)	23(10.9)	
Sobrepeso	80	20(29.4)	60(28.4)	
Obesidade	55	8(11.8)	47(22.3)	

Tabela 31. Descrição da função respiratória, hábito tabágico e sintomas mais frequentes entre pacientes ex-fumantes participantes do estudo, segundo classificação COex. São Paulo, 2022.

	Total	COex ≥6	COex <6	p valor
Função pulmonar				
VEF ₁	1.22	1.18(0.70)	1.24(0.79)	0.608
CVF	2.3	2.29(0.9)	2.30(0.9)	0.915
VEF ₁ /CVF	0.51	0.50(0.13)	0.51(0.16)	0.59
VEF₁/VCF (pré)				
Menor que 70%	230	60(89.5)	170(83.3)	0.245
Igual ou maior a 70%	41	7(10.5)	34(16.7)	
CAT (média, dp)	19	18.8(8.6)	19.1(9.6)	0.859
Carga tabágica (mediana, mín-máx)	52.5	50.6(35.9)	53.1(40.4)	0.652
Tabagismo passivo				
Sim, familiar	54	16(23.9)	38(18.5)	0.554
Sim, conjugê	26	7(10.4)	19(9.3)	
Não foi fumante passivo	192	44(65.7)	148(72.2)	
Exposição à biomassa				
Fogão à lenha	114	24(35.8)	90(43.9)	0.625
Exposição ocupacional	20	6(9.0)	14(6.8)	
Fogão à lenha e exposição ocupacional	31	9(13.4)	22(10.7)	
Não teve exposição	107	28(41.8)	79(38.5)	
Sintomas				
Expectoração crônica				
ausente	95	23(34.3)	72(35.1)	1
presente	177	44(65.7)	133(64.9)	
Tosse				
ausente	109	30(44.8)	79(38.5)	0.391
presente	126	37(55.2)	126(61.5)	

Tabela 32. Descrição das mutações genóticas mais frequentes entre pacientes participantes ex-fumantes do estudo, segundo classificação COex. São Paulo, 2022.

	Total	COex ≥6	COex <6	p valor
Avaliação genotípica				
CYP2A6*1B				
Homozigoto WT	124	32(47.8)	92(45.1)	0.150
Heterozigoto	118	32(47.8)	86(42.2)	
Homozigoto polimórfico	29	3(4.5)	26(12.7)	
CYP2A6*2				
Homozigoto WT	260	63(94.0)	197(96.6)	0.473
Heterozigoto	11	4(6.0)	7(3.4)	
CYP2A6*5				
Homozigoto WT	267	66(98.5)	201(99.5)	0.437
Heterozigoto	2	1(1.5)	1(0.5)	
Homozigoto polimórfico				
CHRNA5 - rs16969968				
Homozigoto WT	107	24(35.8)	83(40.7)	0.757
Heterozigoto	135	36(53.7)	99(48.5)	
Homozigoto polimórfico	29	7(10.5)	22(10.8)	
CHRNA3 - rs1051730				
Homozigoto WT	103	22(32.8)	81(39.7)	0.592
Heterozigoto	140	38(56.7)	102(50.0)	
Homozigoto polimórfico	28	7(10.5)	21(10.3)	
FAM13A - rs7671167				
Homozigoto WT	64	14(20.9)	50(24.9)	0.742
Heterozigoto	131	33(49.3)	98(48.7)	
Homozigoto polimórfico	73	20(29.9)	53(26.4)	
CHRNA3 - rs6495309				
Homozigoto WT	154	40(59.7)	114(56.2)	0.379
Heterozigoto	103	26(38.8)	77(37.9)	
Homozigoto polimórfico	13	1(1.5)	12(5.9)	

Ao realizarmos a análise de correlação dos genótipos inseridos no presente estudo, por meio do teste de correlação de Spearman, foi identificada baixa correlação entre a maioria dos alelos avaliados. Entretanto, nota-se que a variante de *CHRNA5* rs16969968 apresenta forte correlação com a variante *CHRNA3* rs1051730 (corr 97%, $p < 0,001$).

Já a variante *CHRNA3* rs6495309 também apresentou correlação inversamente proporcional e significativa ($p < 0,001$) em relação aos alelos de

CHRNA5 rs16969968 e *CHRNA3* rs1051730, no entanto essa correlação foi considerada baixa (<40%), conforme observado na tabela 33.

Tabela 33. Matriz de correlação de Spearman para avaliar a correlação entre os resultados de mutações gênicas apresentados. São Paulo, 2022.

	<i>CYP2A6*1B</i>	<i>CYP2A6*2</i>	<i>CYP2A6*5</i>	<i>CHRNA5</i>	<i>CHRNA3</i> rs1051730	<i>FAM13A</i>	<i>CHRNA3</i> rs6495309
<i>CYP2A6*1B</i>	1.00						
<i>CYP2A6*2</i>	-0.06	1.00					
<i>CYP2A6*5</i>	0.09	-0.03	1.00				
<i>CHRNA5</i> rs16969968	0.06	0.06	0.05	1.00			
<i>CHRNA3</i> rs1051730	0.04	0.05	0.05	0.97	1.00		
<i>FAM13A</i>	-0.09	0.08	-0.01	0.01	0.01	1.00	
<i>CHRNA3</i> rs6495309	0.07	-0.04	0.04	-0.36	-0.39	0.03	1.00

Nota: em negrito, correlações que apresentaram p valor < 0.001

Criamos um escore de mutações genotípicas, permitindo uma avaliação do impacto global dos genótipos em relação aos grupos de interesse. A mediana do escore foi de 4 pontos na amostra global, variando entre 0 e 9.

A primeira visão, apresentada na figura 13, reflete a distribuição do escore segundo grupo de estudo. Nota-se que o grupo de pacientes com DPOC apresenta pontuação mediana maior que o grupo com indivíduos tabagistas. Esse resultado apresentou p valor < 0,001.

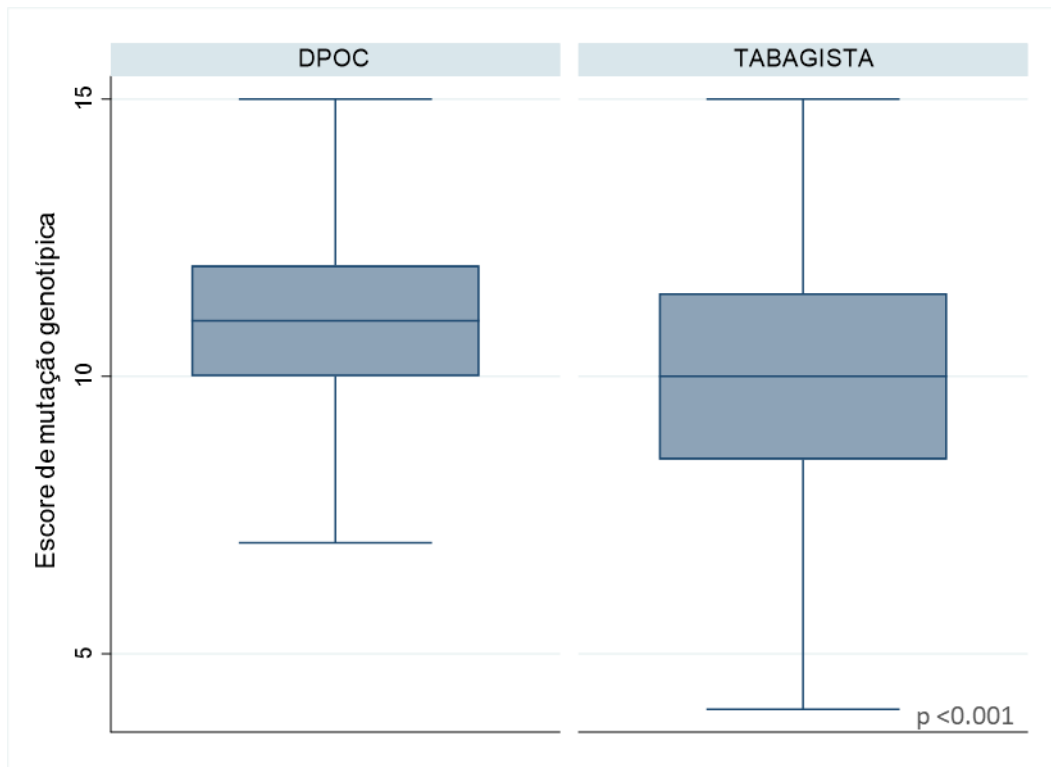


Figura 13. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo grupo de estudo.

As associações dos alelos individuais também foram testadas para os grupos em um modelo de regressão logística, mas nenhuma associação significativa foi observada, conforme tabela 34. A associação existe a partir da combinação dos alelos na visão do escore. O resultado que pode ser interpretado é que participantes do estudo do grupo Tabagista apresentavam, em média, escore final 0,81 pontos superior aos participantes do grupo DPOC ($p < 0,001$).

Tabela 34. Associação entre Grupo de Estudo (referência - Grupo DPOC) e variáveis genotípicas. São Paulo, 2022.

Regressão Logística	OR	IC95%
<i>CYP2A6*1B</i>	0.88	(0.62;1.24)
<i>CYP2A6*2</i>	1.37	(0.49;3.81)
<i>CYP2A6*5</i>	3.95	(0.64;23.96)
<i>CHRNA5</i> - rs16969968	0.73	(0.52;1.02)
<i>CHRNA3</i> - rs1051730	0.74	(0.53;1.04)
<i>FAM13A</i> - rs7671167	1.02	(0.74;1.41)
<i>CHRNA3</i> - rs6495309	0.74	(0.53;1.04)
Regressão Linear	Coef	IC95%
Score de mutações genotípicas	0.81	(0.71;0.93)

Outras visões foram avaliadas para compreensão do impacto das alterações genéticas em diferentes contextos de interesse. Quando o grupo de tabagistas foi avaliado em comparação com o grupo de ex-tabagistas, observou-se que a pontuação mais elevada ocorreu entre o grupo de ex-tabagistas. Além disso, essa associação também apresenta relação com DPOC, uma vez que existe maior proporção de ex-fumantes nesse grupo (Figura 14).

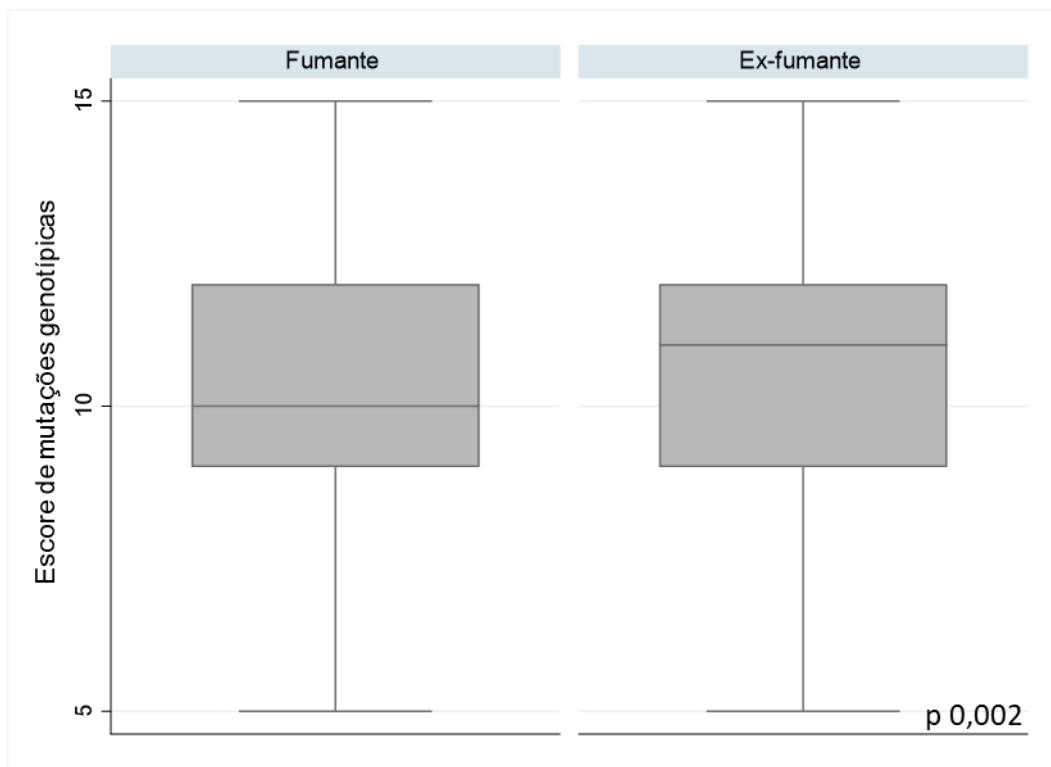


Figura 14. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo hábito de fumar.

Ao comparar os resultados de COex, apresentamos 3 visões (figuras 15, 16 e 17): a comparação da amostra global e dividido segundo subamostra de acordo com status tabágico. Apenas a visão global mostrou-se diferente ($p=0,034$) com escore maior para o grupo COex maior ou igual a 6.

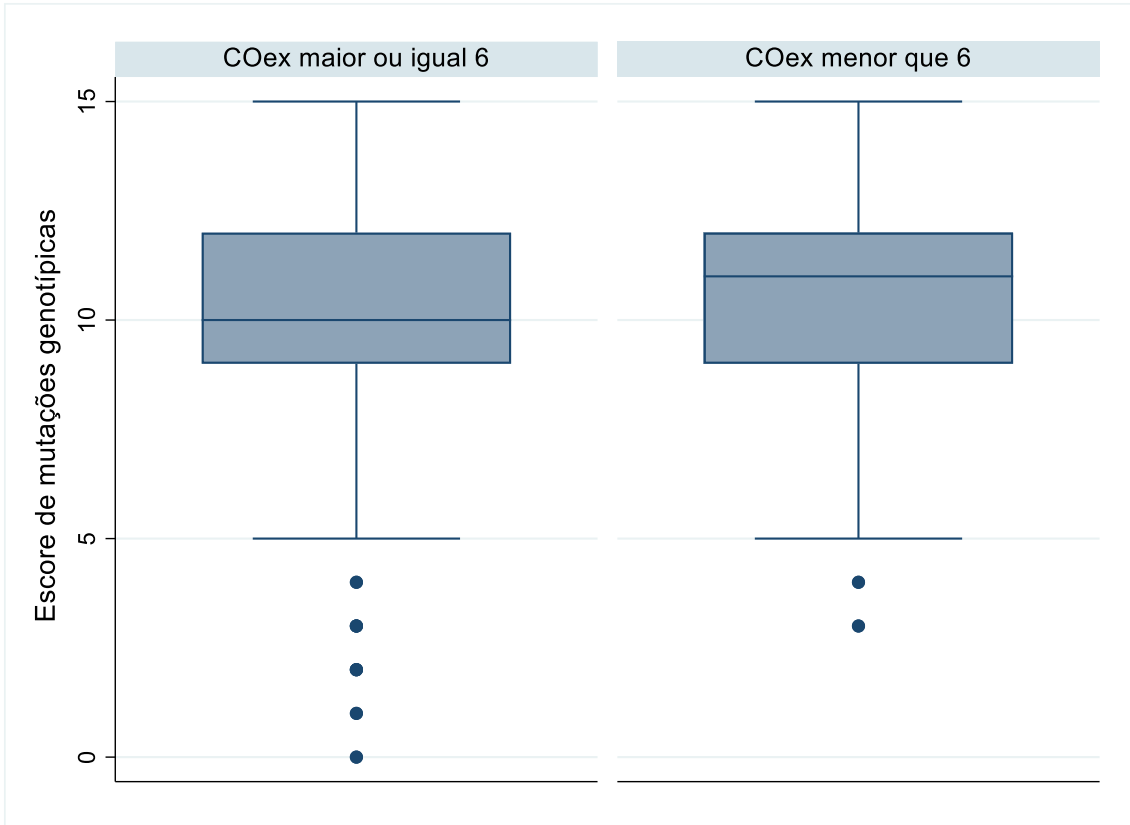


Figura 15. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo COex na amostra total.

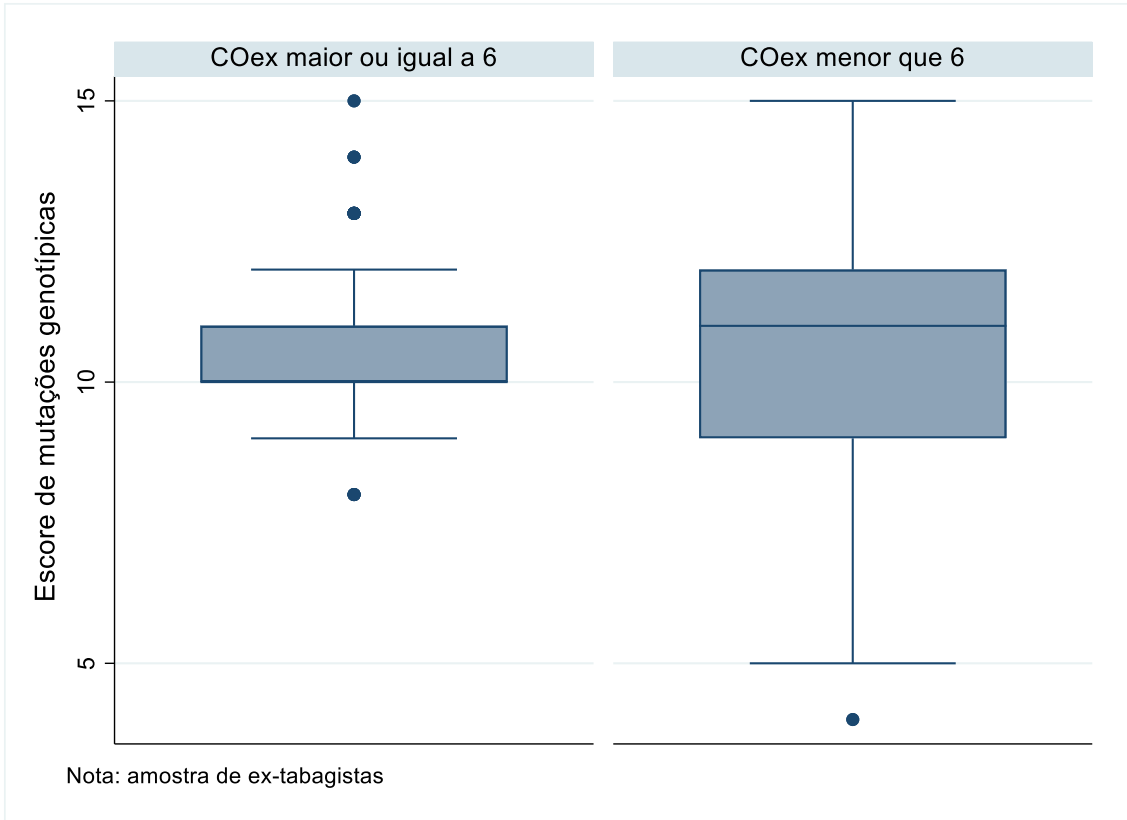


Figura 16. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo COex no grupo de indivíduos ex-tabagistas.

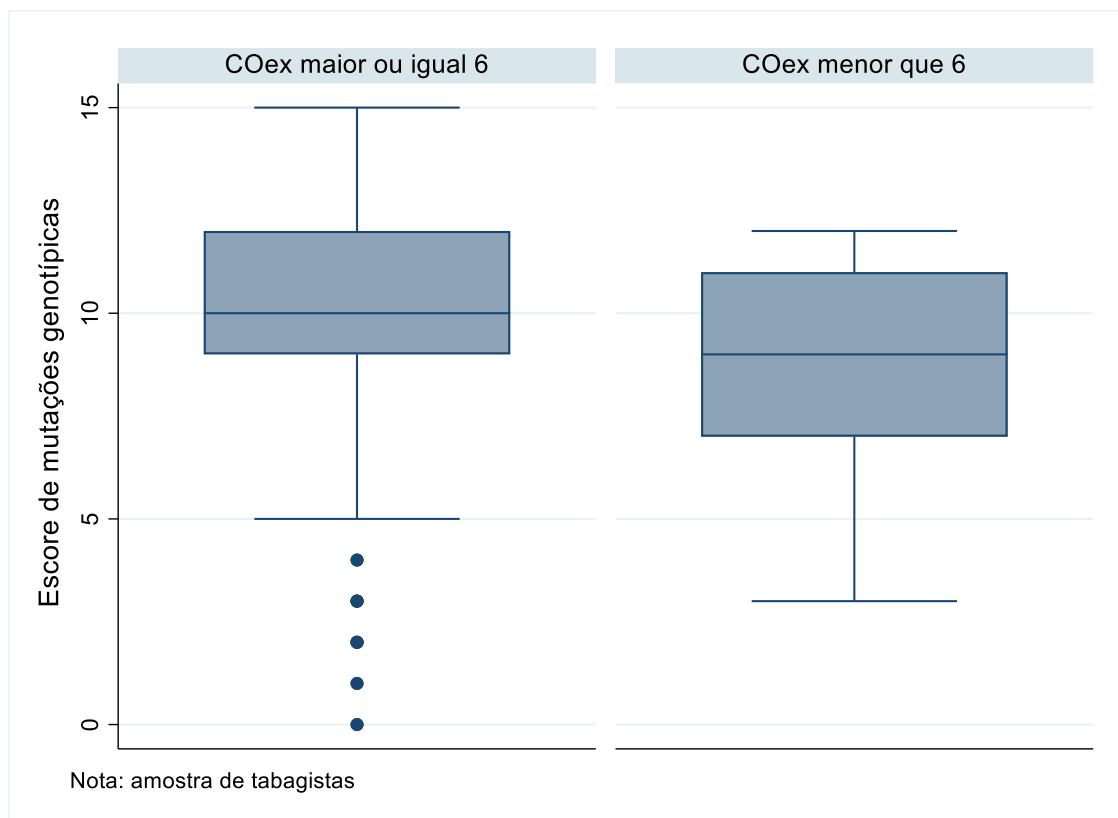


Figura 17. Boxplot para comparação da distribuição do escore de mutações genotípicas, segundo COex no grupo de indivíduos tabagistas.

Por fim, ao ser realizada a comparação dos escores segundo função pulmonar, na figura 18 apresenta-se a distribuição do escore segundo resultado da razão VEF₁/CVF categorizada em menor que 70% ou maior ou igual a 70%. Observamos que os participantes com pior indicador de função pulmonar apresentaram maior pontuação mediana do escore mutações genotípicas (p 0,004).

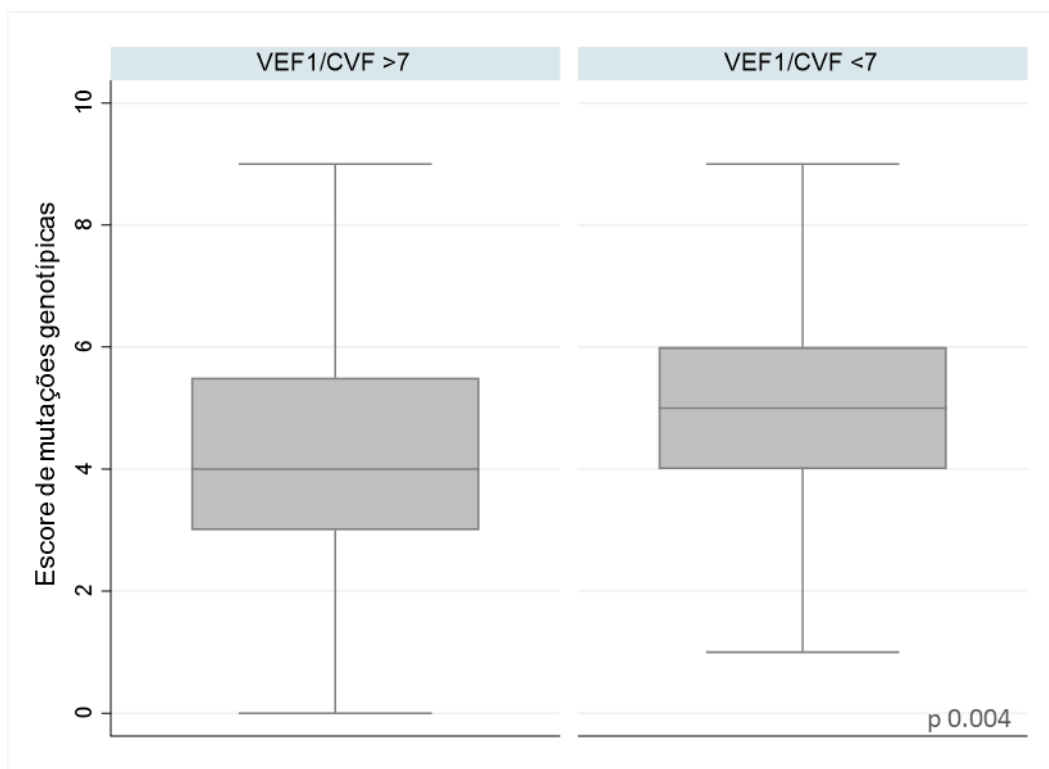


Figura 18. Boxplot para comparação da distribuição do Escore de mutações genotípicas segundo função pulmonar. São Paulo, 2022.

Para verificar os fatores associados à pior função pulmonar, foram desenvolvidos modelos de regressão logística não ajustados e ajustados (tabela 35). No modelo não ajustado identificamos que sexo, idade, estado nutricional, hábito de fumar, carga tabágica, COex e o escore de mutações genotípica estiveram associados ao desfecho de interesse. A visão do modelo ajustado apresenta maior poder de explicação do fenômeno.

No modelo ajustado, participantes do sexo masculino apresentaram chance de 1,87 para apresentar pior função pulmonar em relação aos do sexo feminino. A idade também foi um fator relevante para o modelo final, indicando uma associação de dose-resposta, onde quanto mais velho o indivíduo, maior a chance de apresentar pior desempenho pulmonar.

Frente ao estado nutricional, pessoas com baixo peso apresentavam pior desfecho pulmonar cerca de 4 vezes mais que pessoas eutróficas. Em contrapartida, a obesidade pode ser interpretada como um fator protetivo (OR 0,42, p 0,20).

Pessoas com COex superior ou igual a 6 apresentaram uma odds de 5,15 para pior função pulmonar em relação a comparação com pessoas com COex menor que 6.

A interpretação do escore de mutações genotípicas indica que a cada 1 ponto no escore implica no aumento de 23% na odds para apresentar pior desfecho pulmonar (p 0,011). A carga tabágica também fez parte do modelo final como variável de ajuste, não apresentando impacto estatisticamente significativo.

Tabela 35. Fatores associados à VEF₁/CVF menor que 70% entre pacientes participantes do estudo.

	Análise não ajustada		Análise ajustada	
	OR	IC95%	OR	IC95%
Sexo (masculino)	2.38	(1.52;3.73)	1.87	(1.05;3.34)
Idade				
Até 59 anos	Ref			
de 60 a 69 anos	6.66	(3.93;11.30)	8.98	(4.71;17.12)
70 anos ou mais	29.59	(11.31;77.44)	22.1	(7.90;61.84)
Índice de Massa Corpórea				
Eutrófico	Ref			
Baixo peso	3.06	(1.12;8.36)	4.08	(1.14;14.60)
Sobrepeso	1.20	(0.71;2.03)	1.23	(0.62;2.44)
Obesidade	0.54	(0.31;0.94)	0.42	(0.20;0.89)
Hábito tabágico				
Não fumante	127.5	(22.6;718.6)		
Fumante ativo	Ref			
Ex-fumante	95.37	(36.5;249.4)		
Carga tabágica	1.01	(1.00;1.02)	1.00	(0.99;1.01)
Anos de tabagismo	1.00	(0.98;1.01)		
COex <6	5.55	(3.49;8.82)	5.15	(2.87;9.23)
Mutações genotípicas				
<i>CYP2A6*1B</i>	1.19	(0.85;1.66)		
<i>CYP2A6*2</i>	0.67	(0.25;1.80)		
<i>CYP2A6*5</i>	0.30	(0.05;1.83)		
<i>CHRNA5</i> - rs16969968	1.42	(1.02;1.97)		
<i>CHRNA3</i> - rs1051730	0.81	(0.56;1.16)		
<i>FAM13A</i> - rs7671167	0.96	(0.71;1.32)		
<i>CHRNA3</i> - rs6495309	1.41	(1.01;1.96)		
Escore de mutações genotípicas	1.23	(1.08;1.39)	1.23	(1.05;1.45)

5 DISCUSSÃO

5.1 Limitações do estudo

A primeira dificuldade que cabe ressaltar foi em relação ao recrutamento. Houve uma grande proporção de indivíduos que não aceitaram a participação no estudo tanto no Grupo DPOC quanto no Tabagista. O principal motivo de recusa era a necessidade da coleta do tubo de sangue e da realização de prova de função pulmonar. Esse problema foi agravado com a pandemia pois todo recrutamento teve que ser interrompido em 2020.

Por conta disso, especialmente no Grupo de tabagistas, a coleta acabou sendo prejudicada, fazendo com que tivéssemos um baixo número de indivíduos incluídos no estudo.

Outra limitação que tivemos no estudo foi a diferença de sexo e idade entre os indivíduos dos Grupos DPOC e Tabagista. No grupo DPOC, a maioria dos participantes eram pessoas acima de 60 anos, de ambos os sexos. Já no grupo Tabagista, os participantes eram pessoas com faixa etária um pouco menor (<59 anos), e com predominância do sexo feminino.

A diferença entre os grupos, especialmente no contexto de baixo número de indivíduos incluídos devido às dificuldades durante o recrutamento devem ser levadas em conta ao interpretarmos os resultados.

5.2 Interpretação e análise crítica dos resultados

Os resultados desta pesquisa nos trouxeram informações extremamente relevantes. Inicialmente pudemos observar que no grupo de pacientes

portadores de DPOC foi encontrada uma proporção alta (mais de 10%) de indivíduos homozigotos polimórficos para as variantes *CHRNA5* rs16969968, *CHRNA3* rs1051730, *FAM13A* rs7671167 e *CYP2A6*1B*. No entanto, com relação a carga tabágica ou tempo de tabagismo, não foi observada correlação destes com a presença de mutações individuais.

Em 2018, Pérez-Morales e colaboradores descreveram que as frequências dos polimorfismos *CHRNA3* rs1051730 e *CHRNA5* rs16969968 em populações mestiças mexicanas são diferentes de outras populações, como caucasianas, asiáticas e africanas, que foram relatadas em vários estudos. No estudo em questão foi encontrada uma frequência de 15% para o alelo polimórfico (A), nos respectivos genes. O estudo cita ainda que no caso de asiáticos a frequência dos alelos variam de 1 a 3%, para africanos de 4 a 9% e caucasianos de 34 a 65% (64).

Em um estudo realizado por Young e colaboradores, dos 458 indivíduos portadores de DPOC analisados no estudo, 26% eram homozigotos polimórficos para a variante *FAM13A* rs7671167 (65).

Um estudo realizado no Brasil, por Rossini e colaboradores, evidenciou que em um total de 289 indivíduos analisados, 19 deles (6,6%), eram homozigotos polimórficos para a variante *CYP2A6*1B*. Outro estudo realizado na França, por Gambier e colaboradores, evidenciou que as frequências de homozigotos polimórficos para *CYP2A6*1B* eram de 6,6% em homens e 13,5% em mulheres (66, 67).

Outro estudo de um grupo brasileiro, realizado por Vasconcelos e colaboradores, evidenciou que dentre 412 indivíduos incluídos, 62 indivíduos (15%) eram homozigotos polimórficos para a variante *CYP2A6*1B* (32).

A variante *CYP2A6*1B* não foi estudada na DPOC. Sendo assim, só foi possível trazer dados de frequência genotípica de estudos realizados em pacientes saudáveis. Além disso, é possível notar a escassez de dados na literatura que a correlacionem com DPOC.

Em nosso estudo pudemos observar também que em pacientes tabagistas sem DPOC, as variantes *CHRNA5* rs16969968, *CHRNA3* rs1051730 e *FAM13A* rs7671167 aparecem em mais de 10% dos pacientes homocigotos polimórficos. Com relação a carga tabágica, não foi observada correlação deste com a presença de mutações individuais.

Ainda sobre o estudo de Pérez-Morales e colaboradores, os mesmos observaram que entre 192 pacientes fumantes, sem doença, ou seja, em uma população saudável mexicana, apenas 3 indivíduos (2%) apresentaram homocigose polimórfica para a variante *CHRNA3* rs1051730 e 4 indivíduos (2%) homocigose polimórfica para a variante *CHRNA5* rs16969968 (64).

Em um estudo realizado por Ziółkowska-Suchanek e colaboradores, onde haviam 542 controles fumantes, a variante *FAM13A* rs7671167 apareceu em uma frequência de 24%, porcentagem próxima à encontrada em nosso estudo (68).

Ao buscarmos informações na literatura, é importante ressaltar a escassez de estudos realizados no Brasil que predizem as frequências genotípicas e alélicas das variantes aqui estudadas.

O principal achado em nosso estudo foi a diferença significativa na comparação entre grupos (DPOC e tabagistas) para os polimorfismos de *CHRNA5* rs16969968 e *CHRNA3* rs1051730. As frequências alélicas das outras mutações estudadas foram similares do ponto de vista estatístico.

O sistema mesolímbico de dopamina (DA) é um mediador central de recompensa e reforço de drogas. Os neurônios deste sistema expressam nAChRs (receptores nicotínicos) heteroméricos contendo as subunidades $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\beta 2$ e $\beta 3$ em várias combinações, sendo os subtipos predominantes $\alpha 4/\beta 2/\alpha 5$ e $\alpha 4/\alpha 6/\beta 2/\beta 3$. Estes receptores são codificados pelos genes do grupo *CHRNA* (69).

Os nAChRs são canais iônicos controlados por ligantes, regulados alostericamente, consistindo em cinco subunidades que atravessam a membrana dos neurônios (69).

Um estudo de Sciacaluga e colaboradores evidenciou que em receptores onde a subunidade $\alpha 5$ possui o aspartato 398, alteração que ocorre devido a presença do polimorfismo *CHRNA5* rs16969968, o Ca^{2+} intracelular interage direta ou indiretamente com este aminoácido, e isso leva a uma modificação funcional da subunidade $\alpha 5$. Ainda neste estudo, os pesquisadores trazem que o mesmo mecanismo básico pode explicar diferentes respostas observadas entre outras subunidades, como $\alpha 3$ e $\beta 4$ (70).

O estudo diz ainda que na presença de altas concentrações externas de Ca^{2+} , ocorre aumento do influxo deste íon, levando a altas concentrações de Ca^{2+} intracelular, onde isso faz com que ocorra modulação diferente nas subunidades $\alpha 5$ (70).

Segundo um estudo publicado por Picciotto e Kenny a variação genética no agrupamento de genes *CHRNA3* e *CHRNA5* aumenta a vulnerabilidade à dependência do tabaco e doenças associadas ao tabagismo. Além disso foi visto também que em camundongos onde a expressão da subunidade $\alpha 5$ foi

geneticamente modificada, é possível observar padrões extremamente alterados de consumo de nicotina (69).

No mesmo artigo de Picciotto e Kenny, foi realizada uma revisão da literatura e evidenciado alguns pontos importantes. Foi demonstrado em estudos que variações no agrupamento de genes das subunidades $\alpha 3$ e $\alpha 3$ nAChR aumenta significativamente o risco de dependência de tabaco. O SNP *CHRNA5* rs16969968, muito comum em descendentes de europeus (frequência do alelo menor de 0,42), aumenta o risco de dependência de tabaco em ~30% em indivíduos portadores de uma única cópia da variante e mais que dobra o risco naqueles portadores dois alelos de risco (69).

A mesma descoberta foi consistentemente replicada em outros estudos. A variante de risco rs16969968 está associada ao tabagismo pesado, início precoce do comportamento de fumar e com o prazer do tabaco (69).

A revisão cita ainda que a variante rs16969968 é um importante fator de risco para câncer de pulmão e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) em fumantes, provavelmente refletindo níveis mais elevados de dependência do tabaco em indivíduos portadores do alelo de risco e, conseqüentemente, maior exposição a agentes cancerígenos e toxinas contidos na fumaça do tabaco (69).

Além do SNP rs16969968 em *CHRNA5*, também há risco aumentado de dependência de tabaco em indivíduos portadores dos SNPs rs6495308, rs578776 ou rs1051730 em *CHRNA3* (69).

No estudo de Pérez-Morales e colaboradores (2018), os autores associaram as variantes rs16969968 e rs1051730 com o fato de os fumantes serem chamados de “fumantes pesados”, juntamente com o desenvolvimento

de DPOC. Neste estudo, os autores fizeram a associação das variantes à carga tabágica, e número de cigarros por dia, entretanto não verificaram a veracidade das informações passadas pelos pacientes do estudo através da realização do teste de monóxido de carbono exalado (64).

Se analisarmos que a presença do polimorfismo, seja ele na subunidade $\alpha 3$ ou $\alpha 5$, compromete a modulação da mesma, isso explica indivíduos apresentarem padrões diferentes de dependência nicotínica.

Com todos os dados apresentados em nosso estudo, juntamente com as evidências científicas presentes em literatura, podemos entender que quando há presença de polimorfismos nas subunidades dos receptores nicotínicos, especialmente $\alpha 3$ e $\alpha 5$, isso fará com que o indivíduo apresente uma maior dependência e necessidade de nicotina. O conseqüente aumento da carga tabágica se reflete em maior chance de desenvolver obstrução pulmonar e piora na prova de função pulmonar.

Outro achado em nosso estudo foi que 94,6% dos pacientes que se declararam fumantes atuais tiveram a medida de COex ≥ 6 ppm, o que é condizente com a sensibilidade do método utilizado para avaliar tabagismo atual.

Dentre os pacientes que se autodeclararam ex-tabagistas, 24,6% apresentou medida de COex ≥ 6 ppm, mostrando que neste grupo existe uma proporção relevante de classificação equivocada quando utilizado o tabagismo autodeclarado. Um quarto dos pacientes omite o tabagismo quando questionado.

Uma revisão de literatura, realizada por Bradicich e Schuurmans, publicado no ano de 2020, evidencia que os testes de cotinina sérica e urinária,

além do COex, são fáceis de serem padronizados, além de acessíveis e objetivos para avaliar o tabagismo ativo e passivo. A revisão traz ainda que em pacientes portadores de DPOC ou asma, o teste de COex ainda é o que concentra maior número de evidências atualmente disponíveis (71).

Stelmach e colaboradores realizaram no ano de 2015 um estudo transversal com pacientes portadores de asma, DPOC e controles saudáveis fumantes e não fumantes. Neste estudo o tabagismo foi avaliado por autorrelato, medição de COex e cotinina urinária. Dos 144 indivíduos incluídos na pesquisa, 104 eram portadores de doença pulmonar (asma ou DPOC), e destes, 30 indivíduos (29%) apresentaram concentração de cotinina urinária e nível de COex superior ao limite, contradizendo o autorrelato de que os mesmos não fumavam (62).

Ao analisarmos, em especial, o último estudo citado, podemos perceber que os percentuais de indivíduos que omitem o tabagismo são bem próximos. Em nosso estudo, 24,6% dos pacientes declararam-se ex-tabagistas, entretanto os valores de COex eram superiores à 6 ppm. No estudo de Stelmach e colaboradores este percentual foi de 29%.

Em nossas análises de polimorfismos, nenhum deles, isoladamente, foi relacionado com medidas de COex \geq 6 ppm e autodeclaração de não tabagismo.

Por fim, ao realizarmos o escore de mutações somando os alelos mutados em cada paciente individualmente, pudemos observar que em média, o mesmo foi maior em pacientes portadores de DPOC do que em tabagistas sem DPOC.

Quando o escore de mutações foi comparado com função pulmonar, pudemos observar que indivíduos que apresentavam maior grau de obstrução (razão VEF₁/CVF <70%) apresentaram maior pontuação no escore de mutações, ou seja, pontuavam mais em relação à quantidade de alterações genéticas nas variantes analisadas.

6 CONCLUSÃO

A avaliação destes polimorfismos, feito juntamente com questionamento do status de fumar e análise de COex nos leva a concluir que mutações nos genes estudados tem impacto sobre a evolução da DPOC e a transparência do paciente em relação ao tabagismo junto à equipe assistencial.

Pacientes ainda omitem e negligenciam o tabagismo, impactando na capacidade dos profissionais de saúde em oferecer tratamento. A medida de COex durante as consultas e em pesquisa clínica com pacientes com DPOC é fundamental pois permite uma avaliação objetiva do tabagismo.

Ao analisarmos polimorfismos em alguns genes que possuem relação com tabagismo e DPOC, individualmente, os mesmos não apresentaram resultado estatístico significativo. Entretanto, ao realizarmos o escore de mutações, onde vários polimorfismos são avaliados em conjunto, é possível observar que pacientes com maior pontuação no escore apresentam pior desempenho de função pulmonar e mais diagnóstico de DPOC.

Até o momento não foi encontrado em literatura a correlação de um escore de mutações como as aqui estudadas, e esta correlação com análise de grau de obstrução. Implementar a análise deste escore na prática clínica auxiliaria os profissionais de saúde responsáveis pelo tratamento dos pacientes a predizer o risco de uma maior obstrução. Ou seja, caso o paciente realize o exame e o escore seja aumentado, maior a chance de o mesmo apresentar maior obstrução pulmonar. Com isso, medidas como a cessação precoce do tabagismo poderiam auxiliar para que o quadro não evoluísse tão gravemente.

A DPOC é uma doença multifatorial, onde sabemos que há aumento de risco decorrentes de fatores genéticos e ambientais. O presente estudo buscou avaliar quais seriam estes fatores. Por tratar-se de uma doença multifatorial, encontrar ainda um fator em específico que aumente a chance para desenvolver a doença é um caminho que deve ser seguido.

7 REFERÊNCIAS

1. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *Br Med J*. 1977;1(6077):1645-8.
2. Agustí A, Hogg JC. Update on the Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med*. 2019;381(13):1248-56.
3. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. 2019 report. (Available from: <http://www.goldcopd.org/>).
4. The Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease <https://goldcopd.org/about-us/>
5. Venkatesan P. GOLD report: 2022 update. *Lancet Respir Med*. 2022;10(2):e20.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde. Coordenação-Geral de Gestão de Tecnologias em Saúde. Coordenação de Gestão de Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. Brasília, DF, jun. 2021. (Relatório de Recomendação). Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2021/20210623_Relatorio_PCDT_Doenca_Pulmonar_Obstrutiva_Cronica.pdf. Acesso em: 22 nov. 2022.
7. Menezes AMB, Victora CG, Perez-Padilla R, the PT. The Platino project: methodology of a multicenter prevalence survey of chronic obstructive pulmonary disease in major Latin American cities. *BMC Medical Research Methodology*. 2004;4(1):15.
8. Buist AS, McBurnie MA, Vollmer WM, Gillespie S, Burney P, Mannino DM, et al. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. *Lancet*. 2007;370(9589):741-50.
9. Moreira GL, Manzano BM, Gazzotti MR, Nascimento OA, Perez-Padilla R, Menezes AM, et al. PLATINO, a nine-year follow-up study of COPD in the city of São Paulo, Brazil: the problem of underdiagnosis. *J Bras Pneumol*. 2014;40(1):30-7.
10. World Health Organization. The top 10 causes of death [Internet]. 9 Dez 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.

11. Gonçalves-Macedo L, Lacerda EM, Markman-Filho B, et al. Trends in morbidity and mortality from COPD in Brazil, 2000 to 2016. *J Bras Pneumol*. 2019;45(6):e20180402.
12. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro sobre Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica - DPOC. *J Bras Pneumol*. 2004;30(Suppl 5):S1-S42.
13. Melo TG, Santoni NB, Finkelstein BJ, Veiga DL, Nascimento MH, Rosito FC. Índice de hospitalização e custos associados à doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) entre estados que padronizaram versus que não padronizaram o tiotrópio - dados do mundo real. *J Bras Econ Saúde*. 2018;10(1):29-53.
14. Secretaria de saúde do Distrito Federal. Disponível em: <http://www.saude.df.gov.br/wp-conteudo/uploads/2018/04/Tratamento-Medicamentoso-da-DPOC-Vers%C3%A3o-final.pdf> (Arquivo capturado em agosto de 2020).
15. Silva GPF, Morano MTAP, Viana CMS, Magalhães CBA, Pereira EDB. Portuguese-language version of the COPD Assessment Test: validation for use in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2013;39(4): 402-8.
16. The Tobacco Atlas. [Internet]. Acesso em: 22 nov. 2022. Disponível em: https://tobaccoatlas.org/wp-content/uploads/2018/03/TobaccoAtlas_6thEdition_LoRes_Rev0318.pdf
17. World Health Organization. WHO report on the global tobacco epidemic, 2015: Raising taxes on tobacco—Executive summary. Acesso em: 11 nov. 2022. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/178577/1/WHO_NMH_PND_15.5_eng.pdf?ua=1&ua=1&ua=1.
18. World Health Organization. Tobacco [Internet]. [atualizado em 2022 mai. 24]. Acesso em: 11 nov. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>.
19. Asma S, Song Y, Cohen J, et al. CDC Grand Rounds: global tobacco control. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2014;63(13):277-280.
20. Centers for Disease Control and Prevention. Health effects of cigarette smoking [Internet]. [atualizado em 2021 Out. 29] October 29, 2021. Acesso em: 11 nov. 2022. Disponível em: https://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/fact_sheets/health_effects/effects_cig_smoking/#print.

21. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010 Description of the global burden of NCDs, their risk factors and determinants. Acesso em: 11 nov. 2022. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/178577/1/WHO_NMH_PND_15.5_eng.pdf?ua=1&ua=1&ua=1.
22. Instituto nacional do câncer. Observatório da política nacional de controle do tabaco. Dados e números da prevalência do tabagismo. Acesso em: ago. 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/observatorio-da-politica-nacional-de-controle-do-tabaco/dados-e-numeros-prevalencia-tabagismo>.
23. World Health Organization. Global adult tobacco survey [Internet]. Acesso em: 11 nov. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/teams/noncommunicable-diseases/surveillance/systems-tools/global-adult-tobacco-survey>.
24. Levy D, de Almeida LM, Szklo A. The Brazil SimSmoke Policy Simulation Model: The Effect of Strong Tobacco Control Policies on Smoking Prevalence and Smoking-Attributable Deaths in a Middle Income Nation. PLOS Medicine. 2012;9(11):e1001336.
25. Instituto de Efetividade Clínica e Sanitária. A importância de aumentar os impostos do tabaco na Brasil. Palacios A, Pinto M, Barros L, Bardach A, Casarini A, Rodríguez Cairoli F, Espinola N, Balan D, Perelli L, Comolli M, Augustovski F, Alcaraz A, Pichon-Riviere A. Dez. 2020, Buenos Aires, Argentina. Disponível em: www.iecs.org.ar/tabaco.
26. Erzurumluoglu AM, Liu M, Jackson VE, Barnes DR, Datta G, Melbourne CA, et al. Meta-analysis of up to 622,409 individuals identifies 40 novel smoking behaviour associated genetic loci. Molecular Psychiatry. 2020;25(10):2392-409.
27. Vrbica Ž, Labor M, Gudelj I, Labor S, Jurić I, Plavec D, et al. Early detection of COPD patients in GOLD 0 population: an observational non-interventional cohort study - MARKO study. BMC Pulm Med. 2017;17(1):36.
28. Quaak M, van Schayck CP, Knaapen AM, van Schooten FJ. Genetic variation as a predictor of smoking cessation success. A promising preventive and intervention tool for chronic respiratory diseases? Eur Respir J. 2009;33(3):468-80.
29. El-Boraie A, Tyndale RF. The Role of Pharmacogenetics in Smoking. Clinical Pharmacology & Therapeutics. 2021;110(3):599-606.
30. Salvi S. Tobacco smoking and environmental risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. Clin Chest Med. 2014;35(1):17-27.
31. Fisher ML, Pauly JR, Froeliger B, Turner JR. Translational Research in Nicotine Addiction. Cold Spring Harb Perspect Med. 2021;11(6).

32. Vasconcelos GM, Struchiner CJ, Suarez-Kurtz G. CYP2A6 genetic polymorphisms and correlation with smoking status in Brazilians. *Pharmacogenomics J.* 2005;5(1):42-8.
33. Benowitz NL. Pharmacology of nicotine: addiction, smoking-induced disease, and therapeutics. *Annual review of pharmacology and toxicology.* 2009;49:57-71.
34. Bierut LJ. Convergence of genetic findings for nicotine dependence and smoking related diseases with chromosome 15q24-25. *Trends Pharmacol Sci.* 2010;31(1):46-51.
35. Wojas-Krawczyk K, Krawczyk P, Biernacka B, Grzybek M, Kołodziej P, Kucharczyk T, et al. The polymorphism of the CHRNA5 gene and the strength of nicotine addiction in lung cancer and COPD patients. *Eur J Cancer Prev.* 2012;21(2):111-7.
36. Bashynska V, Koliada A, Murlanova K, Zahorodnia O, Borysovyh Y, Moseiko V, et al. Prevalence of Some Genetic Risk Factors for Nicotine Dependence in Ukraine. *Genet Res Int.* 2019;2019:2483270.
37. Reference SNP (rs) Report [Internet]. [atualizado em 2021 Abr. 9]. Acesso em: 19 nov. 2022. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs16969968#variant_details.
38. Korytina GF, Akhmadishina LZ, Viktorova EV, Kochetova OV, Viktorova TV. IREB2, CHRNA5, CHRNA3, FAM13A & hedgehog interacting protein genes polymorphisms & risk of chronic obstructive pulmonary disease in Tatar population from Russia. *Indian J Med Res.* 2016;144(6):865-76.
39. Halldén S, Sjögren M, Hedblad B, Engström G, Hamrefors V, Manjer J, et al. Gene variance in the nicotinic receptor cluster (CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4) predicts death from cardiopulmonary disease and cancer in smokers. *J Intern Med.* 2016;279(4):388-98.
40. Reference SNP (rs) Report [Internet]. [atualizado em 2021 Abr. 9]. Acesso em: 10 nov. 2022. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1051730#frequency_tab.
41. Keskitalo K, Broms U, Heliövaara M, Ripatti S, Surakka I, Perola M, et al. Association of serum cotinine level with a cluster of three nicotinic acetylcholine receptor genes (CHRNA3/CHRNA5/CHRNA4) on chromosome 15. *Hum Mol Genet.* 2009;18(20):4007-12.
42. Hobbs BD, de Jong K, Lamontagne M, Bossé Y, Shrine N, Artigas MS, et al. Genetic loci associated with chronic obstructive pulmonary disease overlap with loci for lung function and pulmonary fibrosis. *Nat Genet.* 2017;49(3):426-32.

43. Lee JY, Yoo SS, Kang HG, Jin G, Bae EY, Choi YY, et al. A functional polymorphism in the CHRNA3 gene and risk of chronic obstructive pulmonary disease in a Korean population. *J Korean Med Sci.* 2012;27(12):1536-40.
44. Wang B, Liang B, Yang J, Xiao J, Ma C, Xu S, et al. Association of FAM13A polymorphisms with COPD and COPD-related phenotypes in Han Chinese. *Clin Biochem.* 2013;46(16-17):1683-8.
45. Reference SNP (rs) Report [Internet]. [atualizado em 2021 Abr. 9]. Acesso em: 10 nov. 2022. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs7671167#frequency_tab.
46. Saccone NL, Baurley JW, Bergen AW, David SP, Elliott HR, Foreman MG, et al. The Value of Biosamples in Smoking Cessation Trials: A Review of Genetic, Metabolomic, and Epigenetic Findings. *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco.* 2018;20(4):403-13.
47. Raunio H, Rautio A, Gullstén H, Pelkonen O. Polymorphisms of CYP2A6 and its practical consequences. *Br J Clin Pharmacol.* 2001;52(4):357-63.
48. Styn MA, Nukui T, Romkes M, Perkins KA, Land SR, Weissfeld JL. CYP2A6 genotype and smoking behavior in current smokers screened for lung cancer. *Substance use & misuse.* 2013;48(7):490-4.
49. Daly AK. Polymorphic Variants of Cytochrome P450: Relevance to Cancer and Other Diseases. *Adv Pharmacol.* 2015;74:85-111.
50. Ezzeldin N, El-Lebedy D, Darwish A, El Bastawisy A, Abd Elaziz SH, Hassan MM, et al. Association of genetic polymorphisms CYP2A6*2 rs1801272 and CYP2A6*9 rs28399433 with tobacco-induced lung Cancer: case-control study in an Egyptian population. *BMC Cancer.* 2018;18(1):525.
51. Oscarson M, McLellan RA, Gullstén H, Agúndez JA, Benítez J, Rautio A, et al. Identification and characterisation of novel polymorphisms in the CYP2A locus: implications for nicotine metabolism. *FEBS Lett.* 1999;460(2):321-7.
52. Verde Z, Santiago C, Rodríguez González-Moro JM, de Lucas Ramos P, López Martín S, Bandrés F, et al. 'Smoking genes': a genetic association study. *PLoS One.* 2011;6(10):e26668.
53. Reference SNP (rs) Report [Internet]. [atualizado em 2021 Abr. 9]. Acesso em: 10 nov. 2022. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs5031017#frequency_tab.
54. Malta DC, Oliveira TP, Vieira ML, Almeida L, Szwarcwald CL. Uso e exposição à fumaça do tabaco no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde 2013. *Epidemiologia e Serviços de Saúde.* 2015;24:239-48.

55. Williams J, Rakovac I, Loyola E, Sturua L, Maglakelidze N, Gamkrelidze A, et al. A comparison of self-reported to cotinine-detected smoking status among adults in Georgia. *Eur J Public Health*. 2020;30(5):1007-12.
56. Connor Gorber S, Schofield-Hurwitz S, Hardt J, Levasseur G, Tremblay M. The accuracy of self-reported smoking: a systematic review of the relationship between self-reported and cotinine-assessed smoking status. *Nicotine Tob Res*. 2009;11(1):12-24.
57. Thomas CE, Wang R, Adams-Haduch J, Murphy SE, Ueland PM, Midttun Ø, et al. Urinary Cotinine Is as Good a Biomarker as Serum Cotinine for Cigarette Smoking Exposure and Lung Cancer Risk Prediction. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2020;29(1):127-32.
58. Tanner J-A, Chenoweth MJ, Tyndale RF. Pharmacogenetics of Nicotine and Associated Smoking Behaviors. In: Balfour DJK, Munafò MR, editors. *The Neurobiology and Genetics of Nicotine and Tobacco*. Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 37-86.
59. Benowitz NL, Dains KM, Dempsey D, Wilson M, Jacob P. Racial differences in the relationship between number of cigarettes smoked and nicotine and carcinogen exposure. *Nicotine Tob Res*. 2011;13(9):772-83.
60. Zhu AZX, Renner CC, Hatsukami DK, Swan GE, Lerman C, Benowitz NL, et al. The ability of plasma cotinine to predict nicotine and carcinogen exposure is altered by differences in CYP2A6: the influence of genetics, race, and sex. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2013;22(4):708-18.
61. Pan KT, Leonardi GS, Ucci M, Croxford B. Can Exhaled Carbon Monoxide Be Used as a Marker of Exposure? A Cross-Sectional Study in Young Adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(22).
62. Stelmach R, Fernandes FLA, Carvalho-Pinto RM, Athanazio RA, Rached SZ, Prado GF, et al. Comparação entre medidas objetivas do tabagismo e tabagismo autodeclarado em pacientes com asma ou DPOC: será que nossos pacientes dizem a verdade?. *J Bras Pneumol*. 2015;41(2):124-132.
63. Oscarson M, Gullstén H, Rautio A, Bernal ML, Sinues B, Dahl ML, et al. Genotyping of human cytochrome P450 2A6 (CYP2A6), a nicotine C-oxidase. *FEBS Lett*. 1998;438(3):201-5.

64. Pérez Morales R, González Zamora A, González Delgado MF, Rincón E, Olivas Calderon E, Ramírez O, et al. CHRNA3 rs1051730 and CHRNA5 rs16969968 polymorphisms are associated with heavy smoking, lung cancer, and chronic obstructive pulmonary disease in a mexican population. *Annals of Human Genetics*. 2018;82.
65. Young RP, Hopkins RJ, Hay BA, Whittington CF, Epton MJ, Gamble GD. FAM13A locus in COPD is independently associated with lung cancer - evidence of a molecular genetic link between COPD and lung cancer. *Appl Clin Genet*. 2011;4:1-10.
66. Rossini A, Lima SS, Rapozo DCM, Faria M, Albano RM, Pinto LFR. CYP2A6 and CYP2E1 polymorphisms in a Brazilian population living in Rio de Janeiro. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2006;39(2):195-201.
67. Gambier N, Batt AM, Marie B, Pfister M, Siest G, Visvikis-Siest S. Association of CYP2A6*1B genetic variant with the amount of smoking in French adults from the Stanislas cohort. *Pharmacogenomics J*. 2005;5(4):271-5.
68. Ziółkowska-Suchanek I, Mosor M, Gabryel P, Grabicki M, Żurawek M, Fichna M, et al. Susceptibility loci in lung cancer and COPD: association of IREB2 and FAM13A with pulmonary diseases. *Sci Rep*. 2015;5:13502.
69. Picciotto MR, Kenny PJ. Mechanisms of Nicotine Addiction. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2021;11(5).
70. Sciaccaluga M, Moriconi C, Martinello K, Catalano M, Bermudez I, Stitzel JA, et al. Crucial role of nicotinic $\alpha 5$ subunit variants for Ca^{2+} fluxes in ventral midbrain neurons. *Faseb j*. 2015;29(8):3389-98.
71. Bradicich M, Schuurmans MM. Smoking status and second-hand smoke biomarkers in COPD, asthma and healthy controls. *ERJ open research*. 2020;6(2):00192-2019.

8 ANEXOS

8.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO: Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M F
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO: Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA – “SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AO TABAGISMO E DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA: PREVALÊNCIA E RELAÇÃO COM MEDIDA DE MONÓXIDO DE CARBONO EXALADO”.

PESQUISADORA: CARLA LUANA DINARDO
CARGO/FUNÇÃO: MÉDICA INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 120232
UNIDADE DO HCFMUSP: FUNDAÇÃO PRÓ SANGUE

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 2 ANOS.

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

- 1 – O(A) senhor(a) está sendo convidado a participar do estudo "SUSCETIBILIDADE GENÉTICA AO TABAGISMO E DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA: PREVALÊNCIA E RELAÇÃO COM MEDIDA DE MONÓXIDO DE CARBONO EXALADO". Ele tem como objetivo verificar alterações genéticas na produção de substâncias (enzimas e receptores) que estão envolvidas com o metabolismo da nicotina no organismo.
- 2 – Para este estudo será realizada a avaliação dos genes de CYP2A6, CHRNA5, CHRNA3 e FAM13A (envolvidos no processamento da nicotina pelo organismo) por meio da técnica de genotipagem do DNA (material genético obtido a partir do sangue) de pacientes tabagistas e não-tabagistas, com e sem doença pulmonar obstrutiva crônica, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, como é o caso do senhor(a). O objetivo do estudo é tentar associar alterações nestes genes com a presença de doença pulmonar obstrutiva crônica e com o hábito tabágico.
- 3 – Precisaremos coletar uma amostra de sangue (3mL) do senhor, realizar o teste de CO exalado (que se assemelha a espirometria) e aplicar um questionário. O tempo total da sua participação será de 15 minutos.
- 4 – Existe o risco de formação de pequeno hematoma (roxo na pele) no local da coleta de amostra de sangue. Esse risco é baixo.
- 5 – Não há benefícios diretos da pesquisa para o(a) senhor(a). Entretanto, se o estudo conseguir fazer a associação entre estas variações genéticas com a intensidade do tabagismo e a doença pulmonar obstrutiva crônica, ele poderá ser utilizado no futuro como marcador de risco para estas complicações, auxiliando futuramente outros pacientes.
- 6 – Esse estudo não interferirá com nenhum de seus tratamentos;
- 7 – Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal pesquisadora é a aluna de mestrado Isadora Costa da Silva, que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 1º andar, laboratório de Controle de Qualidade da Imunohematologia, telefone 45737508. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-FMUSP): **Av. Dr. Arnaldo, 251 - Cerqueira César - São Paulo - SP -21º andar – sala 36- CEP: 01246-000** Tel: 3893-4401/4407 E-mail: cep_fm@usp.br
- 8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;
- 09 – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;
- 10 – Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais desta pesquisa;

11 – Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação;

12 – Somente utilizaremos os dados e o material coletado para esta pesquisa.

13- Haverá garantia de indenização por danos diretamente relacionados à pesquisa, conforme resolução 466 de 2012 da CONEP.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Suscetibilidade genética ao tabagismo e doença pulmonar obstrutiva crônica: Prevalência e relação com medida de monóxido de carbono exalado".

Eu discuti com a pesquisadora Isadora Costa da Silva sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente

Data ____/____/____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

8.2 Formulário Pacientes Grupo DPOC

Número

Etiqueta

Data: ___/___/___

Formulário – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

Identificação

Nome: _____ Telefone: _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____ Idade: _____ Raça: _____

Data de nascimento: ___/___/___

Critério de Inclusão:

Diagnóstico de DPOC confirmado por ao menos duas espirometrias realizadas em momentos distintos com relação VEF1/CVF pós BD inferior a 0,7 ~~broncodilatador~~.

Sim () Não

Deficiência de alfa1-antitripsina Sim () Não

Critérios de Exclusão:

Incapacidade cognitiva ou física para realizar os exames complementares do protocolo

Sim () Não

Doença cardiovascular ou metabólica grave e descompensada Sim () Não

Possui histórico atual ou progresso de câncer? () Sim () Não

Se sim, qual? _____

Não aceitou participar do estudo ou preencher o TCLE Sim ()

Não foi possível realizar a coleta Sim () Não

Hábitos:

a) Fumante: Atual () ~~Ex-fumante~~ () Não fumante

Idade: Início do tabagismo: _____ Fim do tabagismo: _____

Número de cigarros/dia: _____ Carga ~~tabágica~~: _____

b) Fumante passivo: Não () Sim: () cônjuge () família

c) Exposição à queima de biomassa no passado: Não () Sim, qual? :

Fogão a lenha () Exposição ocupacional

Espirometria:

Data do exame: ___/___/___

	Obtido	% Previsto	Pós-Droga	% P. D.	Varição
CVF					
VEF					
VEF1/CVF%					

*Data do ultimo exame completo: ___/___/___

	Obtido	Previsto
CPT		
VR		
VR/CPT		

Medição de COex

___ ppm ___ %

Sintomas:- MMRC (0-4): () Não () Sim

Grau	Descrição
0	Não há problemas de falta de ar, exceto com exercício intenso.
1	Falta de ar ao caminhar apressadamente no plano ou ao subir ladeira "leve".
2	Caminhada mais lenta do que de pessoas da mesma idade, no plano, devido à falta de ar ou necessidade de parar para respirar ao caminhar em seu próprio ritmo, no plano.
3	Necessidade de parar para respirar após caminhar cerca de 100m ou após andar poucos minutos no plano.
4	Muita falta de ar para sair de casa, ou falta de ar quando ao tirar ou vestir roupa.

- Expectoração crônica: () Não () Sim- Tosse: () Não () Sim

Tratamento atual:

LABA: Não () Sim, qual? _____ Dose: _____

CI: Não () Sim, qual? _____ Dose: _____

Tiotrópio: Não () Sim / Azitromicina: () Não () Sim

Oxigenioterapia: Não () Sim

Exacerbações:

Número de exacerbações no último ano: _____

Data da última exacerbação: _____

Assinatura: _____ RG: _____

8.3 Formulário Pacientes Grupo Tabagista

Nº:

Etiqueta

Data: __/__/__

Formulário – Grupo Tabagismo

Identificação

Nome: _____ Telefone: _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____ Idade: _____ Raça: _____

Data de nascimento: __/__/____ Grau de Escolaridade: _____

Critério de Inclusão:

Paciente sem diagnóstico de DPOC confirmado por ao menos uma espirometria com relação VEF1/CVF sem BD superior a 0,7 Sim () Não

Critérios de Exclusão:

Incapacidade cognitiva ou física para realizar os exames complementares do protocolo Sim () Não

Doença cardiovascular ou metabólica grave e descompensada Sim () Não
Se sim, qual? _____

Possui histórico atual ou pregresso de câncer? () Sim () Não
Se sim, qual? _____

Histórico de asma, ~~bronquiectasia~~, fibrose cística ou demais doenças pulmonares?
 Sim () Não Se sim, qual (is)? _____

Aceitou participar do estudo ou preencher o TCLE? Sim () Não

Foi possível realizar a coleta? Sim () Não

Hábitos:

a) Fumante: Atual () Ex-fumante

b) Idade: Início do tabagismo: _____ Fim do tabagismo: _____
Número de cigarros/dia: _____ Carga tabágica: _____

- c) Fumante passivo: Não () Sim: () cônjuge () família
 d) Exposição à queima de biomassa no passado: Não () Sim, qual? :
 Fogão a lenha () Exposição ocupacional

Espirometria:

Data do exame: ___/___/___

	Obtido	% Previsto	Pós-Droga	% P. D.	Varição
CVF					
VEF					
VEF1/CVF%					

Medição de ~~COex~~

_____ ~~ppm~~ _____ %

Sintomas:

- MMRC (0-4): Não () Sim

Grau	Descrição
0	Não há problemas de falta de ar, exceto com exercício intenso.
1	Falta de ar ao caminhar apressadamente no plano ou ao subir ladeira "leve".
2	Caminhada mais lenta do que de pessoas da mesma idade, no plano, devido à falta de ar ou necessidade de parar para respirar ao caminhar em seu próprio ritmo, no plano.
3	Necessidade de parar para respirar após caminhar cerca de 100m ou após andar poucos minutos no plano.
4	Muita falta de ar para sair de casa, ou falta de ar quando ao tirar ou vestir roupa.

- Expectoração crônica: Não () Sim

- Tosse: Não () Sim

Assinatura: _____ RG: _____

8.4 CAT

O seu nome:

Data de hoje:



Como está a sua DPOC (Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica)? Faça o Teste de Avaliação da DPOC (COPD Assessment Test™-CAT)

Esse questionário irá ajudá-lo e ao seu profissional da saúde a medir o impacto que a DPOC (Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica) causa no seu bem estar e o no seu dia a dia. As suas respostas e a pontuação do teste podem ser utilizadas por você e pelo seu profissional da saúde para ajudar a melhorar o controle da sua DPOC e a obter o máximo benefício do tratamento.

Para cada um dos itens a seguir, assinale com um (X) o quadrado que melhor o descrever presentemente. Certifique-se de seleccionar apenas uma resposta para cada pergunta.

Por exemplo: Estou muito feliz Estou muito triste

PONTUAÇÃO

Nunca tenho tosse	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Tenho tosse o tempo todo	<input type="text"/>
Não tenho nenhum catarro (secreção) no peito	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	O meu peito está cheio de catarro (secreção)	<input type="text"/>
Não sinto nenhuma pressão no peito	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Sinto uma grande pressão no peito	<input type="text"/>
Não sinto falta de ar quando subo uma ladeira ou um andar de escada	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Sinto bastante falta de ar quando subo uma ladeira ou um andar de escada	<input type="text"/>
Não sinto nenhuma limitação nas minhas atividades em casa	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Sinto-me muito limitado nas minhas atividades em casa	<input type="text"/>
Sinto-me confiante para sair de casa, apesar da minha doença pulmonar	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Não me sinto nada confiante para sair de casa, por causa da minha doença pulmonar	<input type="text"/>
Durmo profundamente	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Não durmo profundamente devido à minha doença pulmonar	<input type="text"/>
Tenho muita energia (disposição)	<input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5	Não tenho nenhuma energia (disposição)	<input type="text"/>
			PONTUAÇÃO TOTAL <input type="text"/>

O teste de Avaliação da DPOC (COPD Assessment Test) e o logotipo CAT é uma marca comercial de grupo de empresas GlaxoSmithKline.
©2009 GlaxoSmithKline. Todos os direitos reservados.

