

Acção do tabaco no desenvolvimento e progressão de neoplasias

Renata Alexandra Fernandes Rodrigues

Instituto de Patologia Geral da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Faculdade de Medicina, Rua Larga, 3004-504 Coimbra

RESUMO

Os hábitos tabágicos encontram-se profundamente enraizados na sociedade humana e têm sido associados a um número crescente de patologias, incluindo o cancro, que constitui uma doença de elevada prevalência e mortalidade no mundo ocidental.

Apesar de se reconhecer uma relação directa entre os hábitos tabágicos e o desenvolvimento de alguns tipos de cancro, como o do pulmão, permanece por esclarecer a sua acção como factor de risco para o desenvolvimento de muitas outras neoplasias. A susceptibilidade para desenvolver a doença em indivíduos fumadores poderá depender em parte da capacidade da eliminação de compostos resultantes da combustão do tabaco bem como de outros factores como nomeadamente genéticos. Por outro lado, permanece por esclarecer a acção do tabaco na progressão do cancro. Neste contexto, admite-se que muitos compostos carcinogénicos resultantes da sua combustão, nomeadamente, os hidrocarbonetos poliaromáticos (PAHs), que estão associados ao desenvolvimento de vários tipos de cancro, poderão participar na progressão do tumor dado evidenciarem um efeito indutor da proliferação em várias linhas celulares de cancro.

Por outro lado, reconhece-se actualmente que os hábitos tabágicos provocam um aumento de stresse oxidativo o qual poderá estar envolvido na transformação neoplásica bem como, com uma maior agressividade do fenótipo maligno.

Pelo exposto, pretende-se então esclarecer a “Acção do tabaco no desenvolvimento e progressão de neoplasias”. Desta forma, importa documentar a incidência e prevalência de cancro a nível mundial, assim como a do tabagismo, e estabelecer a relação entre eles. Procura-se saber quais os cancros que estão associados ao tabaco, e destes, quais os mais frequentes, bem como reconhecer os componentes do tabaco e o seu fumo como cancerígenos. Interessa abordar a fisiopatologia do desenvolvimento e progressão de

neoplasias pelo fumo do tabaco, assim como os mecanismos de defesa intra-celular contra esta agressão. Por outro lado, tendo em conta a não previsibilidade do desenvolvimento de uma neoplasia em determinado indivíduo, tentam-se identificar os polimorfismos/ genótipos que poderão constituir um factor de risco para o desenvolvimento de neoplasias em fumadores.

Pretende-se com o presente trabalho a elaboração de uma revisão bibliográfica, capaz de sintetizar e organizar o conhecimento disponível relativamente à acção do tabaco no desenvolvimento e progressão de neoplasias.

O cancro é uma importante causa de morte em todo o mundo. Esta doença era responsável por 7,4 milhões de mortes (cerca de 13% de todas as mortes no mundo) em 2004. Os tipos de cancro com maior mortalidade a nível mundial são o cancro do pulmão, do estômago, colo rectal, do fígado e da mama, sendo que cada um destes causa 1300000, 803000, 639000, 610000, 519000 mortes por ano, respectivamente. Prevê-se que as mortes por cancro em todo o mundo continuem a aumentar, estimando-se cerca de 12 milhões de mortes em 2030.

Em Portugal, a taxa de mortalidade por cancro foi de 262,9 por 100000 habitantes para homens e 170,9 por 100000 habitantes para mulheres, em 2005.

O cancro é uma doença multifactorial, resultando da interacção entre factores genéticos e factores ambientais. Esta interacção gene-ambiente proporciona a possibilidade de definir perfis de risco individual, que seriam importantes para a identificação de sub-grupos com maior risco para a doença.

O fumo do tabaco tem mais de 4800 substâncias identificadas, das quais 81 foram classificadas como cancerígenas pela Agência internacional para Pesquisa sobre Cancro (IARC). Estas substâncias têm como principal porta de entrada o sistema respiratório e

percorrem o organismo transportadas pelo sangue e são posteriormente excretadas, nomeadamente na urina.

A carcinogénese é um processo com várias etapas, que tem na sua base a lesão genética e epigenética induzidas nas células alvo por carcinogéneos. Como resultado, as células adquirem uma maior capacidade de crescimento e multiplicação, e resistência à apoptose. Será muito difícil identificar detalhadamente os mecanismos pelos quais o fumo do tabaco provoca cancro, e é provável que existam diferentes mecanismos implicados na carcinogénese pelo fumo do tabaco.

O consumo de tabaco aumenta o risco de cancro em múltiplos locais do organismo para além dos pulmões, de acordo com o trajecto do fumo do tabaco e com a acção dos seus componentes em diferentes locais do organismo humano. Estes locais incluem a cabeça e o pescoço (incluindo cancro do esófago, laringe, língua, glândulas salivares, lábio, boca e faringe), bexiga e rins, colo do útero, mama, pâncreas, cólon, estômago, cancro cerebral no adulto e leucemia mielóide aguda.

Apesar do consumo continuado de tabaco, nem todos os fumadores desenvolvem cancro, isto explica-se em parte, pela interacção da exposição ao fumo do tabaco com factores genéticos. Assim existem polimorfismos genéticos e outros factores de risco que podem tornar o indivíduo mais susceptível a desenvolver neoplasias.

A complexidade química do fumo do tabaco e activação metabólica de muitos dos seus constituintes, nomeadamente dos hidrocarbonetos poliaromáticos chamou a atenção para os polimorfismos genéticos de enzimas de biotransformação que metabolizam os carcinogénios do fumo do tabaco. Por isso, os genes de várias enzimas activadoras de compostos como as proteínas do citocromo P450 e de enzimas desactivadoras como a glutationa S-transferase, a N-acetiltransferase e uridinadifosfatoglucose transferase têm sido o

principal alvo de estudo no contexto da carcinogénese induzida pelo fumo tabaco. A inactivação de genes supressores tumorais tais como p53, e a activação de proto-oncogenes K-ras também parecem relacionar-se com uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento de cancro em indivíduos fumadores.

Entre os principais efeitos adversos do fumo do tabaco, encontram-se o stresse oxidativo, peroxidação lipídica, desordens lipometabólicas e efeitos mutagénicos. Pensa-se que o fumo do tabaco causa stresse oxidativo por vários mecanismos, incluindo a lesão directa por espécies de radicais livres e em consequência da resposta inflamatória induzida pelo fumo do tabaco, causa também peroxidação lipídica das membranas celulares e a lesão oxidativa de outras biomoléculas como o ADN.

Conclui-se então a necessidade de elaborar estratégias que promovam a cessação tabágica e que demovam as pessoas de começar a fumar. Existe evidência, apesar de limitada, de que o resultado do teste genético para identificação de possíveis alterações susceptíveis de aumentar o risco de cancro, pode possivelmente alterar positivamente o comportamento de fumadores, no contexto de cessação tabágica (aumento do número de tentativas e possivelmente aumento da taxa de sucesso da cessação tabágica), ou diminuindo a prevalência do tabagismo. Concomitantemente, e tendo em conta que acabar com o tabagismo é uma tarefa árdua, se não impossível, podem-se introduzir alterações na composição dos próprios cigarros de modo a diminuir o número e concentração de compostos carcinogénicos que os compõem, diminuindo, desta forma as suas acções nefastas no organismo humano nomeadamente neoplasias.

Palavras-chave

Tabaco, cancro, polimorfismos genéticos, hidrocarbonetos poliaromáticos, carcinogénese, stresse oxidativo, inflamação, mutações, mecanismos de defesa celular.

Incidência/ prevalência de cancro e relevância no mundo actual

Cancro é um termo genérico que designa um grande grupo de doenças que podem afectar qualquer parte do organismo. Outros termos usados são tumor maligno e neoplasia maligna. A característica particular é o rápido desenvolvimento de células anormais que crescem para além das suas fronteiras habituais, e que podem invadir o órgão e mesmo disseminar-se a outros órgãos. Este processo é chamado de metastização, e as metástases são a principal causa de morte devido a cancro de acordo com a World Health Organization (WHO, 2009).

O cancro é uma importante causa de morte em todo o mundo. Esta doença era responsável em 2004 por 7,4 milhões de mortes em todo o mundo (cerca de 13% de todas as mortes). Os tipos de cancro com maior mortalidade a nível mundial são o do pulmão, do estômago, colo rectal, do fígado e da mama, sendo que cada um destes causa 1300000, 803000, 639000, 610000, 519000 mortes por ano, respectivamente, como ilustrado na figura 1 (WHO, 2009).

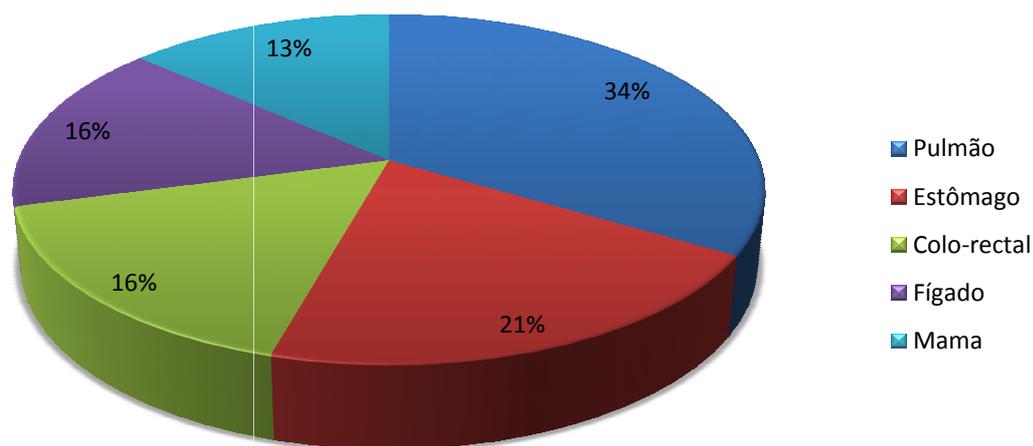


Figura 1- Mortalidade por cancro a nível mundial segundo a WHO.

Apesar da mortalidade por cancro ocorrer maioritariamente em países subdesenvolvidos e em vias de desenvolvimento (70%), esta também permanece elevada nos países desenvolvidos, assim como a incidência da doença (WHO, 2009).

O controlo de doenças transmissíveis bem como o envelhecimento da população, indicam um aumento da incidência de cancro em todo o mundo (WHO, 2009). Este facto advém de uma grande diferença entre as causas de morte de acordo com a condição sócio-económica e cuidados de saúde do país em questão, e da sua população. Se imaginarmos, por exemplo, um grupo internacional diversificado, representativo das mulheres, homens e crianças de todas as partes do globo, que morreram em 2004, em cada mil pessoas, 138 proviriam de países desenvolvidos, 415 de países em vias de desenvolvimento, e 447 de países subdesenvolvidos, como demonstra a figura 2 (WHO, 2008).

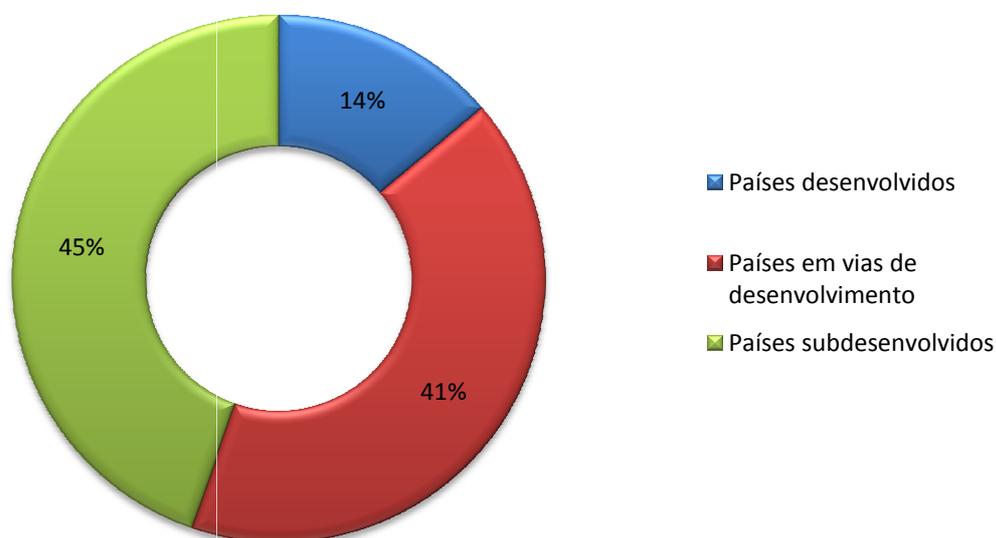


Figura 2- Mortalidade por região demográfica em 2004.

Nos países desenvolvidos, mais de dois terços da população vive para além dos setenta anos de idade e morrem predominantemente de doenças crónicas tais como doenças cardiovasculares, doença pulmonar obstrutiva crónica, cancro, diabetes e demência. A pneumonia permanece a única causa de morte de origem infecciosa (WHO, 2008).

Nos países em vias de desenvolvimento, aproximadamente metade da população vive até aos setenta anos de idade e as doenças crónicas são as que mais matam, tal como nos países desenvolvidos. Contudo, ao contrário do que acontece nestes países, a tuberculose e os acidentes de viação são também grandes causas de mortalidade nos países em vias de desenvolvimento (WHO, 2008).

Em países subdesenvolvidos menos de um quarto da população atinge os setenta anos de idade, e mais de um terço de todas as mortes são de crianças, com menos de catorze anos de idade. As pessoas morrem predominantemente de doenças infecciosas: pneumonias, diarreias, HIV/SIDA, tuberculose, e malária. Complicações da gravidez e parto, continuam a ser, em conjunto, grandes causas de morte, reclamando para si as vidas, quer das crianças quer das mães (WHO, 2008).

Analisando mais de perto a realidade mundial, prevê-se que as mortes por cancro em todo o mundo continuem a aumentar, com uma estimativa de 12 milhões de mortes em 2030 (WHO, 2009), como se pode ver pela figura 3 (WHO, 2008).

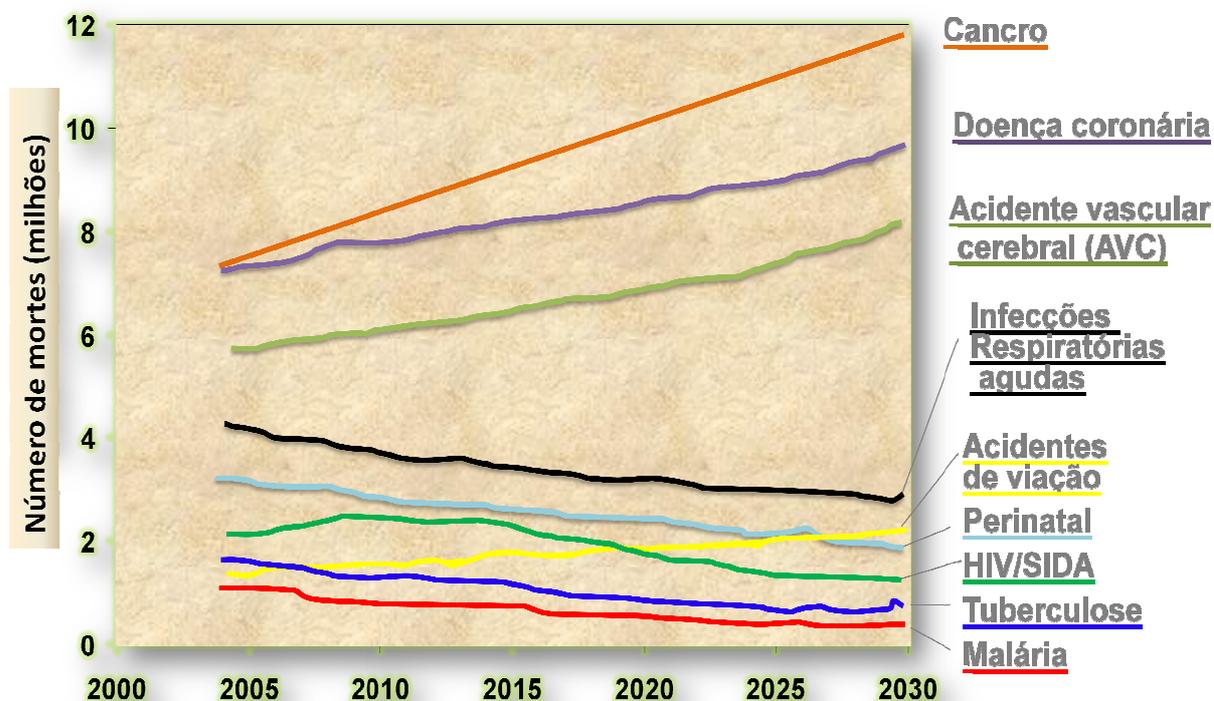


Figura 3- Estimativa do número de mortes de acordo com a causa de 2004 a 2030.
Adaptado de: World Health Organization, 2008.

Os tipos de cancro mais frequentes nos homens, ordenados em função da mortalidade são o cancro do pulmão, do estômago, do fígado, colo rectal, do esófago e da próstata, enquanto nas mulheres são o cancro da mama, do pulmão, estômago, colo rectal e do colo do útero (WHO, 2009), Tabela I (WHO, 2008).

Tabela I – Tipos de cancro mais frequentes em todo o mundo, de acordo com o número de mortes, por cancro e por região, 2004. Os números apresentados representam a relação entre o número de mortes por cada tipo de cancro em diferentes regiões, por exemplo: em relação à população masculina, são 12 os tipos de cancro que mais matam, então o número 12 representa o tipo de cancro responsável pelo maior número de mortes, e o número 1 o tipo de cancro que menos mata, em determinada região. Adaptado de: World Health Organization, 2008.

Tipos de cancro	Mundo	Países desenv olvidos	África	América	Este Mediterrâneo	Europa	Sudeste Asiático	Oeste Pacífico
Homens								
Traqueia, brônquios, pulmão	1	1	5	2	1	1	1	1
Estômago	2	4	6	3	4	2	5	2
Fígado	3	5	2	10	10	10	6	3
cólon e recto	4	2	8	4	8	3	7	5
Esófago	5	8	3	8	6	9	3	4
Próstata	6	3	1	1	9	4	8	11
Boca e orofaringe	7	11	7	7	5	5	2	7
Linfomas e mieloma múltiplo	8	6	4	5	3	11	4	9
Leucemia	9	10	10	6	7	8	9	6
Bexiga	10	9	9	11	2	6	10	10
Pâncreas	11	7	11	9	11	7	11	8
Melanoma e outros cancros da pele	12	12	12	12	12	12	12	12
Mulheres								
Mama	1	1	2	1	1	1	2	5
Traqueia, brônquios, pulmão	2	2	11	5	10	4	5	2
Estômago	3	6	5	3	5	3	8	1
Cólon e recto	4	3	7	4	8	2	6	6
Colo do útero	5	10	1	2	6	5	1	7
Fígado	6	8	3	10	12	11	11	3
Esófago	7	13	6	12	2	12	4	4
Ovário	8	7	8	8	9	6	7	10
Linfomas e mieloma múltiplo	9	5	4	6	4	10	9	12
Pâncreas	10	4	12	7	14	7	12	9
Leucemia	11	9	10	9	3	8	10	8
Boca e orofaringe	12	15	9	14	7	15	3	11
Corpo do útero	13	11	15	11	13	9	14	14
Bexiga	14	12	13	13	11	14	13	13
Melanoma e outros cancros da pele	15	14	14	15	15	13	15	15

Em Portugal, a taxa de mortalidade para todos os tumores malignos foi no ano de 2005 de 262,9 homens por 100000 habitantes e 170,9 mulheres por 100000 habitantes, de acordo com a Direcção Geral de Saúde, como ilustra a figura 4 (DGS, 2008).

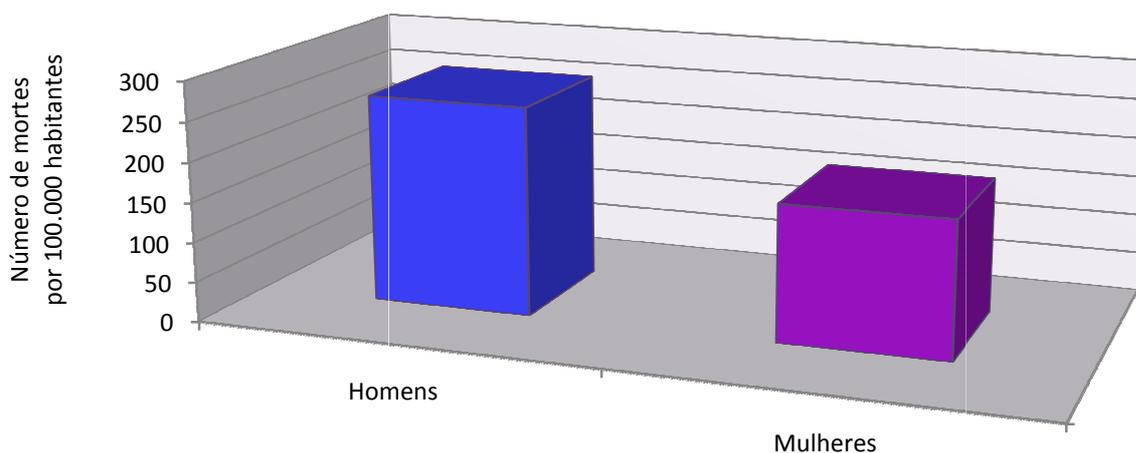


Figura 4- Taxa de mortalidade para todos os tumores malignos no ano de 2005 em Portugal.

Pela análise epidemiológica de diferentes tipos de cancro, constata-se diferenças quanto à incidência/ prevalência de várias neoplasias, de acordo com o género em questão, como exemplo cita-se o cancro do pulmão. As taxas de incidência estão a decrescer nos homens e a estabilizar nas mulheres, após décadas de crescimento nesta população. As diferenças encontradas nos dois grupos quanto à incidência do cancro do pulmão reflecte diferenças comportamentais relacionadas com os respectivos hábitos tabágicos nestes grupos, sendo que as mulheres atingiram o pico do consumo de cigarros vinte anos mais tarde que os homens (Jemal et al., 2008).

Outro tipo de cancro cuja incidência está relacionada com o género é o cancro da mama, o qual é mais comum nas mulheres. Resulta, assim como os outros tipos de cancro, da acumulação de mutações em genes que controlam a proliferação, diferenciação e apoptose das células. No cancro da mama, as hormonas ováricas, nomeadamente estrogénio e progesterona,

têm um papel proeminente no seu desenvolvimento (Lewis et al., 2002), o que, juntamente com o maior desenvolvimento e dimensão da glândula mamária nesta população, elucida a maior incidência deste tipo de cancro na população feminina.

É sabido que o cancro é uma doença multifactorial, resultando da interacção entre factores genéticos e ambientais. No entanto, apenas 5-10% das causas podem ser atribuídas maioritariamente a alterações genéticas, sendo as restantes atribuídas ao meio-ambiente e estilo de vida. Nestas causas incluem-se hábitos tabágicos, tipos de dieta alimentar (rica em alimentos fritos e carne vermelha, e pobre em frutos e legumes), ingestão de álcool, exposição solar, poluição ambiental, infecções, stresse diário, obesidade, e sedentarismo. As evidências indicam que de todas as mortes relacionadas com o cancro, cerca de 25-30% são devidas ao tabaco, e outras 30-35% são relacionadas com a dieta alimentar, cerca de 15-20% devem-se a infecções e a restante percentagem é atribuída a outros factores como radiação, stresse diário, sedentarismo, poluentes ambientais, etc. (figura 5). Desta forma, contribuem para a prevenção do cancro a cessação tabágica, ingestão aumentada de frutas e vegetais, ingestão moderada de bebidas alcoólicas, restrição calórica, exercício físico, evicção da exposição solar exagerada, redução da ingestão de carne vermelha, aumento da ingestão de cereais, vacinação, e “check-ups” regulares (Anand et al., 2008).

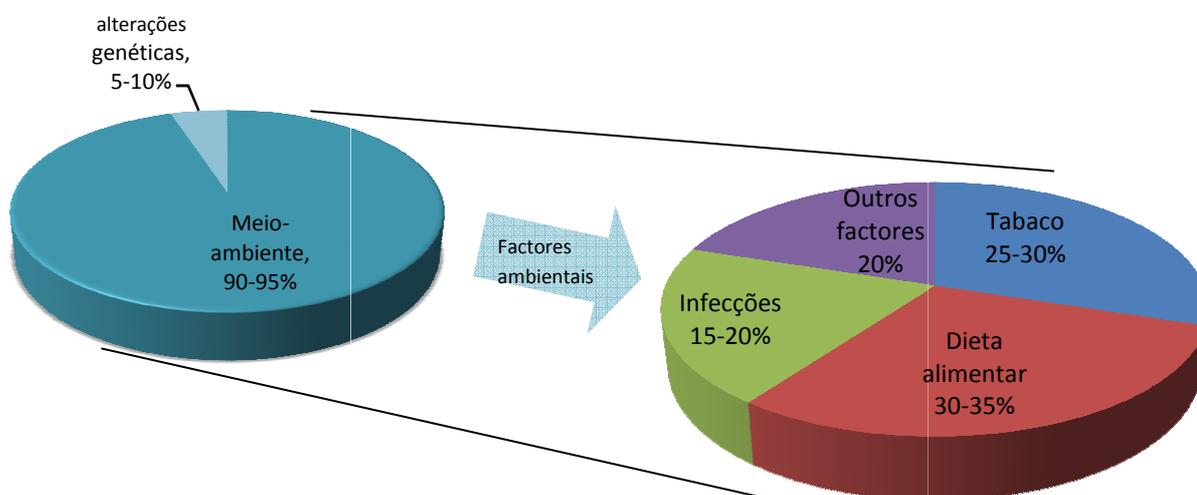


Figura 5- Percentagem de neoplasias atribuídas maioritariamente a causas genéticas e ambientais, respectivamente. Factores ambientais e a sua frequência como causas de cancro.

Como já foi referido, o tabagismo é um factor de risco importante para o desenvolvimento de cancro. O tabagismo foi identificado em 1964 como sendo a causa primária de cancro do pulmão em *US Surgeon General's Advisory Commission Report*, e desde então, têm sido enveredados esforços para diminuir o consumo de tabaco.

Tabagismo significa dependência de tabaco. Consiste no consumo abusivo de tabaco, incluindo cigarros, cigarrilhas, charutos ou tabaco de cachimbo. Não depende apenas da quantidade fumada, mas essencialmente da necessidade de fumar (Manuila et al., 2004).

O tabagismo é altamente prevalente em todo o mundo. Segundo dados da WHO de 2008, 22% dos adultos de todo o mundo fumariam tabaco em 2005. Destes, cerca de 80% seriam homens e 20% mulheres.

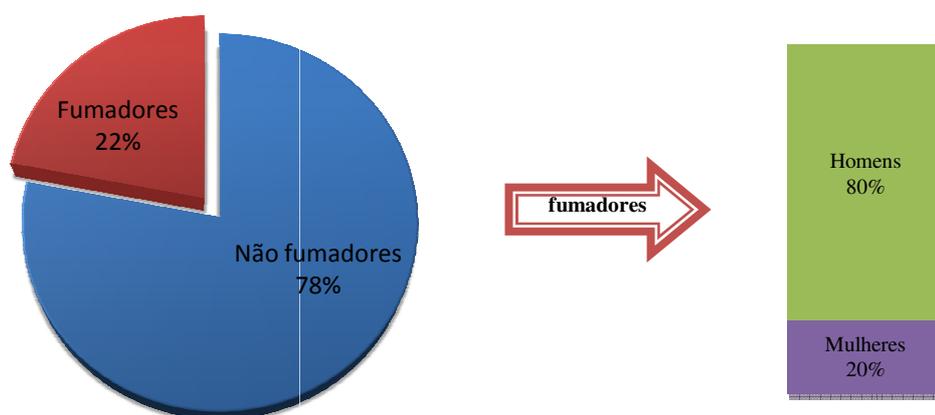


Figura 6- Percentagem de fumadores de tabaco a nível mundial e sua relação com o género.

Em Portugal continental, 28,7% da população masculina é fumadora e 24,9% correspondem a ex-fumadores. Na população feminina, 11,2% das mulheres são fumadoras e 6,6% são ex-fumadoras. Nas regiões autónomas, nomeadamente nos Açores, as taxas de fumadores (as) e ex-fumadores (as) totalizam respectivamente, 36,4% e 21,8% na população masculina e 11,9% e 5,8% na população feminina. As mesmas taxas na Madeira

correspondem respectivamente a, 31,5% e 13,7% na população masculina e 10,6% e 2,0% na população feminina (DGS, 2008).

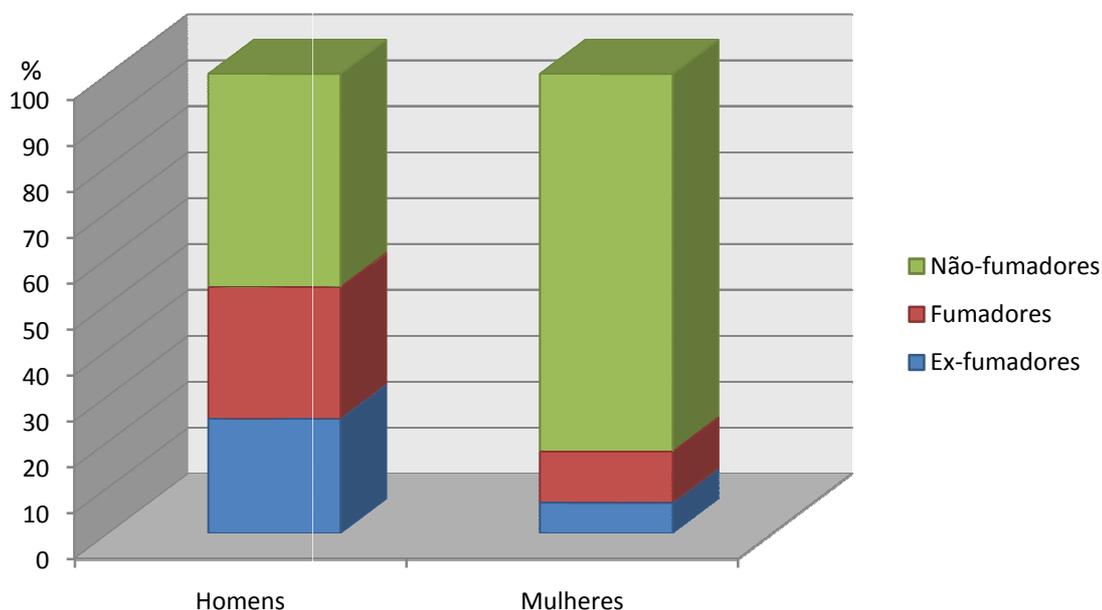


Figura 7- Percentagem de fumadores, ex-fumadores e não-fumadores (que nunca fumaram) em Portugal de acordo com o género.

Relativamente à mortalidade por cancro em Portugal, constata-se que em cada mil mortes , 149,7 são devidas a cancro. Assim, neste país as taxas de mortes devidas a cancro são de 148,3 mortes em Portugal continental, 204,4 mortes nos Açores e 167,6 na Madeira, contadas em cada mil mortes destas regiões (DGS, 2008). Verificamos que as regiões onde a mortalidade por cancro é maior (que por ordem decrescente de mortalidade por cancro são Açores, Madeira e Portugal continental) são também as que registam uma maior taxa de hábitos tabágicos na sua população, o que poderá estar relacionado.

O consumo de tabaco é a primeira causa evitável de cancro. De acordo com o *U.S. Department of Health and Human Services*, o risco de morte por cancro é 22 vezes maior nos homens fumadores e cerca de 12 vezes maior nas mulheres fumadoras, em comparação com os não fumadores da mesma idade e sexo (Antunes, 2006).

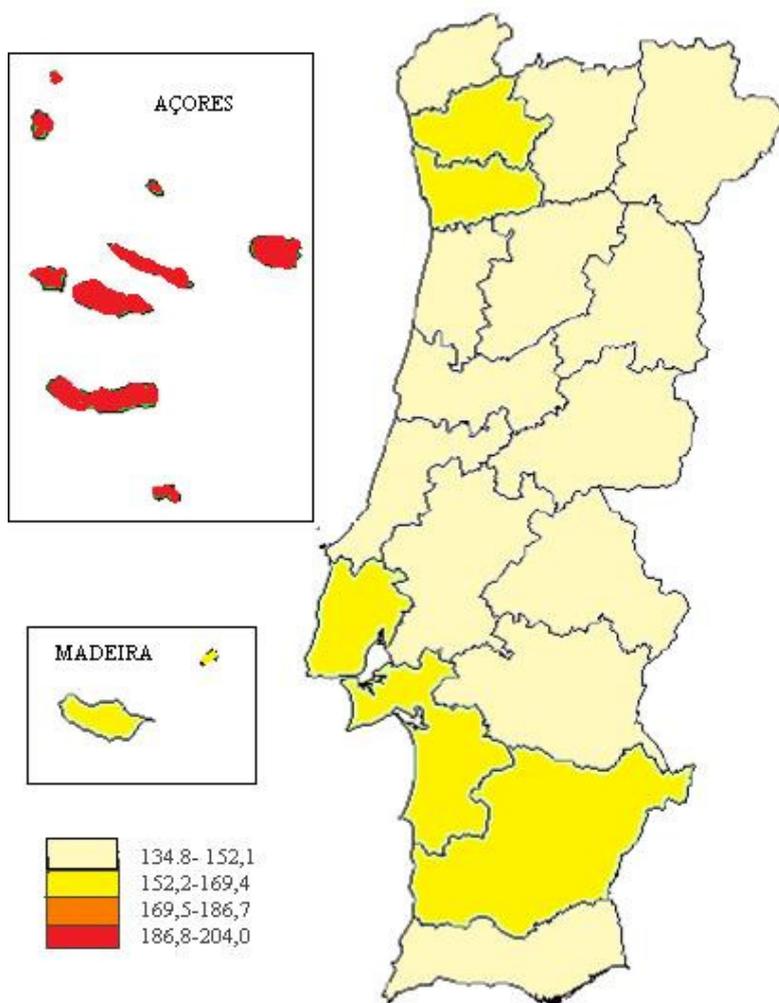


Figura 8- Mortalidade por cancro e por regiões de saúde em Portugal. A legenda mostra o número de mortes por cancro em cada mil mortes ocorridas. Adaptado de: Direcção Geral de Saúde, 2008.

Assim, são relacionadas neste trabalho duas realidades altamente prevalentes, o cancro, responsável por 7,4 milhões de mortes em todo o mundo (cerca de 13% das mortes no mundo) em 2004, e o tabagismo, que acomete 22% da população mundial (WHO, 2008; WHO, 2009). Daqui nota-se que a incidência de tabagismo a nível mundial ultrapassa a mortalidade por cancro, o que pode ser explicado pelo facto de que nem todos os fumadores desenvolvem cancro.

Diferentes tipos de cancro associados ao tabaco

Actualmente, as consequências do consumo de tabaco estão bem estabelecidas para um grande número de doenças, com particular destaque para diferentes tipos de cancro, para as doenças do aparelho respiratório (nomeadamente a Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica), para as doenças cardiovasculares (doença coronária, doença arterial periférica, e outras, que têm como principal factor fisiopatológico a aterosclerose) e para os efeitos na saúde reprodutiva (figura 9). O consumo de tabaco está associado, também, a doenças do aparelho gastro-intestinal, a alterações endócrinas, perturbações cutâneas nomeadamente envelhecimento precoce, perturbações oftálmicas (cataratas) e perturbações na saúde oral como cáries e periodontite (Antunes, 2006).

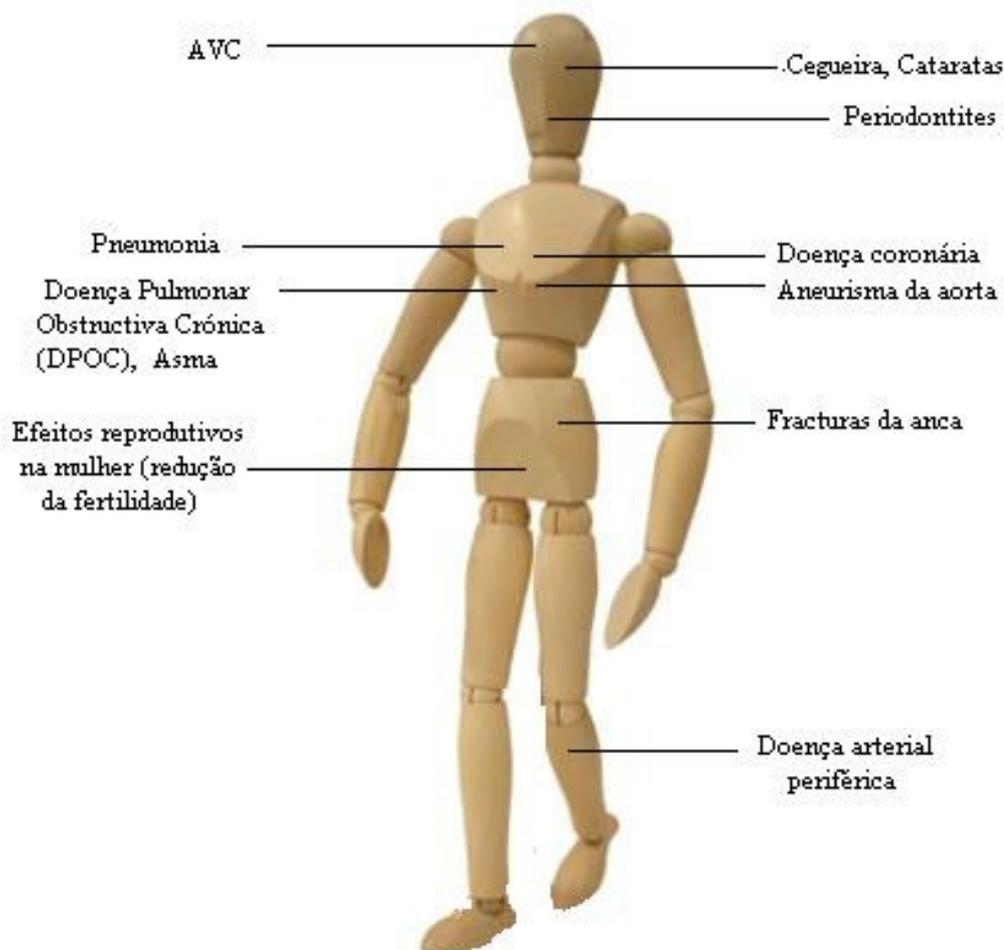


Figura 9 – Doenças associadas ao consumo de tabaco.

Por outro lado, o tabaco encontra-se relacionado com o aumento do risco de cancro em muitos outros locais do organismo para além dos pulmões, de acordo com o trajecto do fumo do tabaco e com a acção dos seus componentes em diferentes locais do organismo. Estes locais incluem a cabeça e o pescoço (nomeadamente cancro do esófago, laringe, língua, glândulas salivares, lábio, boca e faringe), bexiga e rins, colo do útero, mama, pâncreas, cólon (WHO, 2009), estômago, cancro cerebral no adulto e leucemia mielóide aguda (Alberg et al., 2004). A figura 10 evidencia esta diversidade.

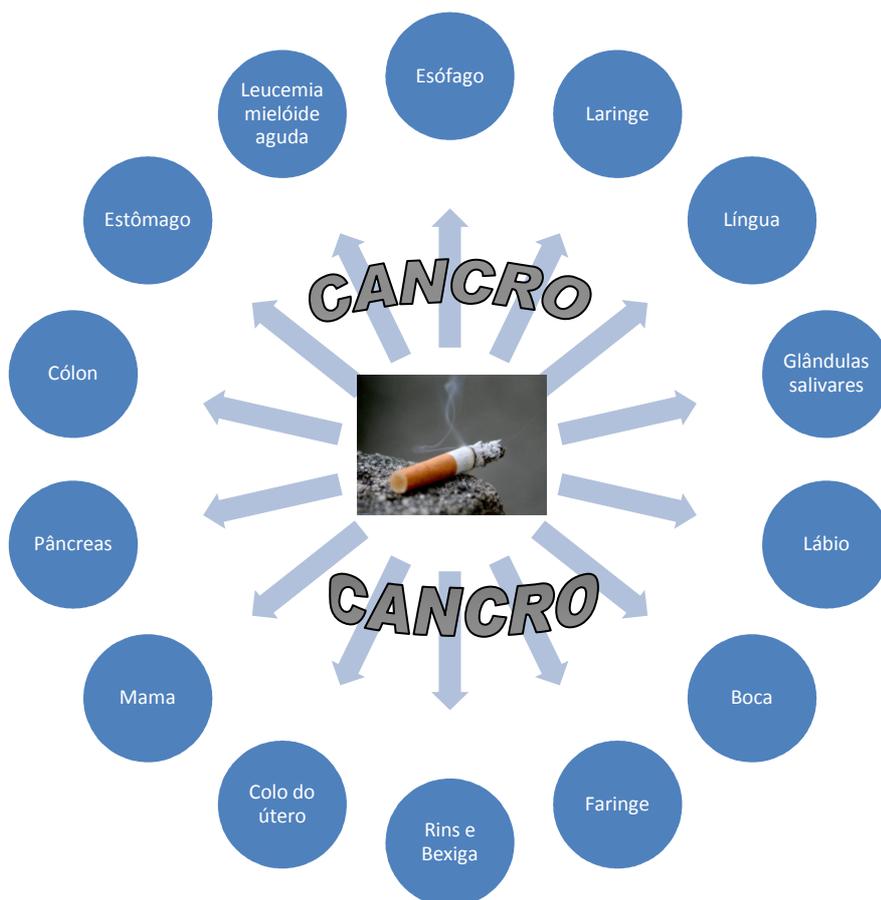


Figura 10 – Diferentes tipos de cancro associadas ao consumo de tabaco.

Quanto ao cancro do pulmão, existem evidências suficientes para inferir uma relação causal entre o tabaco e o cancro do pulmão. O fumo do tabaco provoca alterações genéticas nas células do pulmão, que culminam no desenvolvimento do cancro. Existem vários tipos histológicos de cancro do pulmão, nomeadamente carcinoma espinhocelular ou epidermóide, carcinoma de pequenas células, adenocarcinoma e carcinoma de células grandes. Os carcinomas espinhocelular e de pequenas células geralmente apresentam-se como massas centrais com crescimento endobrônquico, enquanto que os adenocarcinomas e os carcinomas de células grandes costumam apresentar-se como nódulos ou massas periféricas, frequentemente com envolvimento pleural (Fauci et al., 2008). O adenocarcinoma é agora o tipo mais frequente de cancro do pulmão. A base da alteração do carcinoma espinhocelular para o adenocarcinoma como tipo mais frequente de cancro do pulmão não é clara, mas pode reflectir alterações nos carcinogéneos do fumo do cigarro (Alberg et al., 2004). Em média, os fumadores aumentam 5 a 10 vezes o risco de ter cancro do pulmão, e nos países desenvolvidos, o tabagismo é responsável por mais de 80% de todos os casos de cancro do pulmão. O cancro do pulmão permanece uma doença com mau prognóstico. A detecção precoce propicia uma intervenção potencialmente valiosa, mas a relação custo-benefício coloca-a longe do alcance de todos os sistemas de saúde (WHO, 2009).

O tabaco encontra-se há muito relacionado com o cancro da cabeça e do pescoço, particularmente em tecidos em que existe contacto com o fumo do tabaco. Para o cancro da cavidade oral, homens fumadores têm uma taxa de cancro 27 vezes superior a homens não fumadores. E para cancro laríngeo, as taxas são 12 vezes superiores. Parte da explicação destes efeitos pode provir de mutações no gene supressor tumoral p-53, as quais são mais comuns em fumadores com cancros de células escamosas da cabeça e pescoço do que em não fumadores com o mesmo tipo de cancro (WHO, 2009). Existem evidências suficientes para

inferir uma relação causal entre o tabaco e os cancros da cavidade oral, da faringe, da laringe, do esófago, tanto espinhocelular, como adenocarcinoma e do estômago (Alberg et al., 2004). Existem evidências sugestivas, mas não suficientes para inferir uma relação causal entre os cancros gástricos não-cárdicos, particularmente devido à modificação dos factores de agressão celular causada pela persistência e patogenicidade das infecções por *Helicobacter pylori* (Alberg et al., 2004)

No mundo ocidental, o tabaco é a causa mais importante de cancro da bexiga, estimado em 40-70% dos casos. Apesar da bexiga não estar directamente exposta ao tabaco, os hidrocarbonetos poliaromáticos, reconhecidos como carcinogénicos, podem ser absorvidos pelo sangue e transportados para a bexiga, ficando as células da bexiga expostas aos efeitos carcinogénicos destes compostos (WHO, 2009). Por outro lado, o tabagismo também está relacionado com o desenvolvimento de cancro das células renais e da pélvis renal (Alberg et al., 2004).

Em relação ao cancro do pâncreas, estima-se que o tabagismo seja responsável por 30% dos casos. À semelhança do que acontece com o cancro da bexiga, pensa-se que os carcinogénicos inalados pelo fumador entram na corrente sanguínea e também na bÍlis, alcançando o pâncreas por estas vias. O cancro do pâncreas apresenta-se com mau prognóstico, sendo a sobrevivência aos 5 anos inferior a 5% na maioria dos casos (WHO, 2009).

Novamente, como no cancro da bexiga e do pâncreas, o risco de cancro do cólon está aumentado entre fumadores, presumivelmente devido ao transporte de carcinogénicos para o cólon oriundos do fumo do tabaco inalado ou engolido. Os registos que suportam esta associação provêm de vários estudos longitudinais, nos quais diversos grupos de pessoas foram seguidos durante vários anos, para registar a ocorrência de várias patologias. Com base

em dados de profissionais de saúde nos EUA, o tabagismo parece duplicar o risco de cancro do cólon. A maioria dos cancros do cólon começa como pólipos. O risco de cancro aumenta com o tamanho do pólipo e com o aumento do número de anos de tabagismo (WHO, 2009). Entre estudos prospectivos, existe uma associação consistente entre tabagismo e cancro colo-rectal, sendo que esta associação é mais forte para cancro do recto do que para o cancro do cólon (Liang et al., 2009).

O efeito do tabaco no desenvolvimento do cancro do colo do útero apenas recentemente foi reconhecido, em parte porque as mulheres fumadoras podem apresentar também outros factores de risco para este cancro, particularmente a exposição ao papiloma vírus que aumenta o risco deste tipo de cancro. No entanto, actualmente reconhece-se que o consumo de tabaco aumenta o risco de cancro do colo do útero, particularmente em mulheres que fumam 40 ou mais cigarros por dia. Nos EUA, o tabagismo é responsável por aproximadamente 30% das mortes por cancro do colo do útero (WHO, 2009).

Para as mulheres de países desenvolvidos, as taxas de cancro da mama têm vindo a aumentar nas últimas décadas, acompanhadas de perto pelo rápido aumento do tabagismo feminino que ocorreu em meados do século vinte. No entanto existe controvérsia no que diz respeito à relação entre tabagismo e o desenvolvimento de cancro da mama (WHO, 2009). Enquanto que alguns estudos sugerem que não há relação causal entre tabagismo e cancro da mama (Alberg et al., 2004), entrevistas a mulheres dinamarquesas no momento da mamografia, revelaram que fumar por mais de trinta anos aumentava em 60% o risco de desenvolver cancro da mama e, em média, com início oito anos mais cedo, quando comparado com não fumadores. Dado que a incidência de cancro da mama está a ser ultrapassada pela incidência de cancro do pulmão, na população feminina, serão necessários estudos mais aprofundados para clarificação do papel do tabagismo no cancro da mama, estes

estudos serão de grande valor no fortalecimento da cessação tabágica da população feminina (WHO, 2009).

Quanto à leucemia aguda, verifica-se que o risco de desenvolver esta doença aumenta com o número de cigarros fumados e com a duração do tabagismo (Alberg et al., 2004).

O consumo de tabaco é a primeira causa evitável de cancro (Antunes, 2006), e um factor de risco major para desenvolvimento de cancro do pulmão, sendo este um dos efeitos mais conhecidos do tabaco na saúde humana (WHO, 2009).

Predisposição genética para o desenvolvimento de cancro em indivíduos fumadores

Apesar do risco de desenvolvimento de alguns tipos de cancro se encontrar relacionado com hábitos tabágicos, apenas uma percentagem dos indivíduos expostos desenvolvem a doença, sugerindo também a participação de outros factores ambientais e de factores genéticos (Owing, 2005).

O fumo do tabaco contém vários milhares de compostos químicos, dos quais 69 são reconhecidos como carcinogéneos. Os carcinogéneos mais importantes pertencem aos grupos dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, aminas aromáticas e compostos nitrosos (Owing, 2005).

Muitos dos compostos do fumo do tabaco são convertidos em metabolitos reactivos através da acção de enzimas celulares oxidativas, enzimas activadoras de compostos que correspondem às enzimas de fase I. Posteriormente estes metabolitos reactivos são conjugados por enzimas celulares inactivadoras correspondendo a enzimas de fase II, desta

forma o substrato torna-se mais hidrofílico e pode ser mais facilmente excretado para o exterior da célula (Owing, 2005).

Às enzimas de fase I correspondem as enzimas do citocromo P450, uma família de enzimas metabolizadoras de compostos, localizadas na membrana interna das mitocôndrias, ou no retículo endoplasmático. No grupo das enzimas de fase II encontram-se as enzimas γ -glutamil-cisteína-sintetase, quinona-redutase, glutathione-transferase, epóxido-hidrolase, e UDP-glucuronosil-transferase (Jurling, 2001).

As enzimas de fase II têm um papel importante na inactivação de xenobióticos, geralmente através da formação de conjugados, tais como os conjugados glutatil-xenobiótico. Por outro lado, as enzimas de fase I oxidam ou reduzem os xenobióticos, formando metabolitos potencialmente perigosos (Jurling, 2001).

Carcinogéneos do fumo do tabaco, como por exemplo, os hidrocarbonetos aromáticos, requerem activação metabólica pelas enzimas de fase I, e é sob a forma deste metabolito activo que exercem os seus efeitos carcinogénicos (Owing, 2005).

Assim, muitos destes compostos são oxidados em metabolitos activos pelas enzimas de fase I, e posteriormente depurados da célula após conjugação por enzimas de fase II, como exemplifica a figura 11 (Jurling, 2001; Owing, 2005).

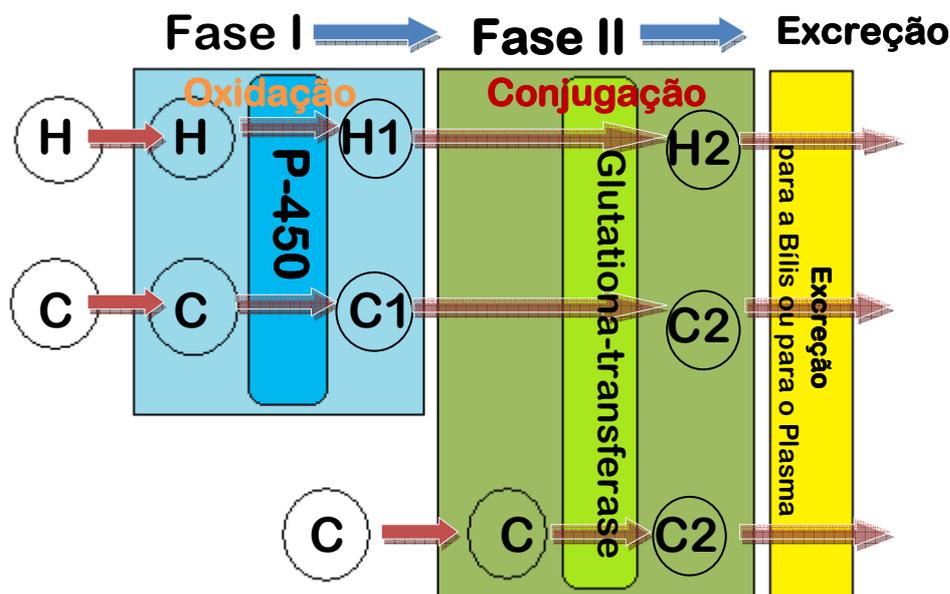


Figura 11- Metabolismo dos xenobióticos. H- hidrocarbonetos poliaromáticos. H1- metabolito activo dos hidrocarbonetos poliaromáticos. H2- produto de excreção dos hidrocarbonetos poliaromáticos. C- outros compostos do fumo do tabaco. C1- metabólitos activos de outros compostos do fumo do tabaco. C2- produtos de excreção de outros compostos do fumo do tabaco.

As reacções de Fase I consistem na activação da molécula e envolvem reacções de oxidação, redução e hidrólise. Estas reacções expulsam ou introduzem um grupo funcional – OH, NH₂, SH ou COOH – resultando geralmente, apenas num ligeiro aumento na hidrofília dos xenobióticos. As reacções envolvidas neste metabolismo podem ser catalisadas por enzimas microssomais (Flavina monooxigenase e Sistema Citocromo P450) e enzimas não microssomais (álcool desidrogenase, monoaminoxidase - MAO, aldeído desidrogenase). (Osswald e Guimarães, 2001).

Reacções de fase II ou também chamadas reacções de conjugação são de natureza sintética e mais rápidas que as reacções de fase I. Estas reacções envolvem a conjugação ou adição de compostos endógenos (glutaciona, aminoácidos, sulfato). Com excepção da acetilação e da metilação, a conjugação torna a molécula inicial mais polar e hidrofílica

facilitando a excreção e desta forma tornando-a menos susceptível de exercer o seu efeito tóxico. A maioria das enzimas de conjugação estão localizadas no citosol, excepto a UDP-glucuronosiltransferase, que é uma enzima microsomal. (Osswald e Guimarães, 2001).

Apesar deste mecanismo inato, a capacidade de depuração está relacionada com a genética individual, nomeadamente com a existência de polimorfismos genéticos, incluindo polimorfismos a nível dos genes que codificam estas enzimas metabolizadoras de fase I e de fase II, influenciando desta forma o risco de desenvolvimento de cancro (Owing, 2005).

Vários tipos de cancro foram relacionados com alterações genéticas, de acordo com o evidenciado na figura 12. Os diferentes tipos de cancros resultam de múltiplas mutações, muitas delas atribuídas à acção de factores ambientais (Anand et al., 2008).

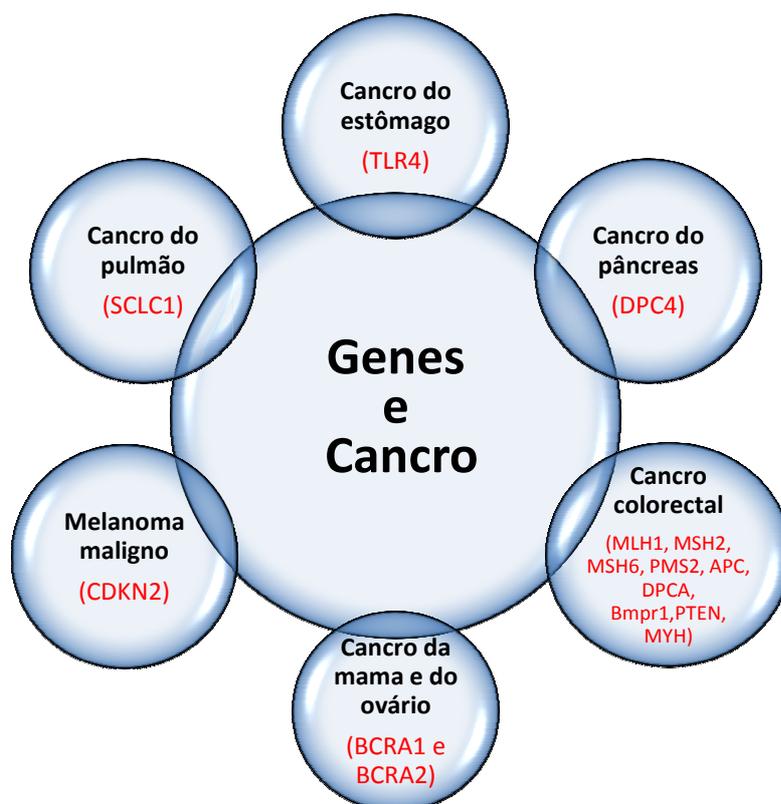


Figura 12- Alterações genéticas associadas a maior risco de cancro.
Adaptado de: Anand et al., 2008.

A complexidade química do fumo do tabaco e a necessidade de activação metabólica de muitos dos seus constituintes chamou a atenção para os polimorfismos genéticos e para as enzimas de biotransformação que metabolizam os carcinogénios do fumo do tabaco. Por isso, os genes de várias enzimas activadoras de compostos como as proteínas do citocromo P450 (CYP) e de enzimas desactivadoras como a glutathione S-transferase (GST), a N-acetiltransferase (NAT) e uridinadifosfatoglucose transferase têm sido o principal alvo de estudo no contexto da carcinogénese induzida pelo fumo tabaco (Saha et al., 2007).

Após uma avaliação destas super-famílias de genes, verificou-se que existe uma grande variabilidade populacional na estrutura e função destas enzimas, o que poderá estar relacionado com diferenças na sua capacidade de activar e inactivar carcinogénios. Vários estudos populacionais mostraram que a variabilidade no metabolismo dos carcinogénios condiciona a carcinogénese química. A susceptibilidade genética pode ser detectada quer fenotipicamente (quantificando a expressão/ actividade enzimática), quer genotipicamente (pela análise do genótipo) (Owing, 2005).

Vários estudos sugeriram uma forte influência de várias enzimas CYP do tipo 1A1, 1A2, 2E1, NAT do tipo 1, GST do tipo M1 e GST do tipo T1 polimórficas na formação de ADN covalentemente ligado a carcinogénios (“aductos de ADN”), na indução de mutações e lesões cromossómicas e/ ou na incidência de vários tipos de cancro, em diferentes populações (Saha et al., 2007).

O gene CYP1A1 foi extensivamente estudado. Duas variantes polimórficas que interagem com os componentes do fumo do tabaco para modificar o risco de cancro do pulmão foram identificadas, nomeadamente o polimorfismo de restrição MspI do gene que codifica a enzima CYP do tipo 1A1 e outro polimorfismo isoleucina-valina (Ile-Val), que resulta na substituição de um aminoácido Ile-Val no local de ligação do grupo heme no CYP

do tipo 1A1 (Nakachi et al., 1993; Okada et al., 1994). A interacção destas variantes polimórficas com o genótipo GST nulo, que corresponde à deleção dos dois alelos do gene GST resultando em ausência de função desta enzima, foi reportada como aumentando o risco de cancro do pulmão em populações diferentes (Saha et al., 2007).

As GSTs são um grupo de enzimas de depuração metabólica que atraíram grandes interesses nos últimos anos devido à sua associação com o aumento do risco para diferentes tipos de cancro, nomeadamente cancro da bexiga (McGrath et al., 2006), da tiróide (Siraj et al., 2008), da próstata (Sivoňová et al., 2009), da mama (McCarty et al., 2009), e do estômago (Boccia et al., 2007. Gianfagna et al., 2008). No entanto, o risco de desenvolver cancro do pulmão e de cancro do esófago não está associado a polimorfismos dos genes que codificam as enzimas do grupo GST (Ye et al., 2006; Wideroff et al., 2007). Com base nas suas sequências, estas enzimas são divididas em cinco classes. Três destas classes são importantes no contexto dos cancros relacionados com a exposição ao fumo do tabaco, nomeadamente, GST do tipo T1 e GST do tipo Pi (Saha et al., 2007).

Os polimorfismos dos genes que codificam as enzimas do grupo GST estão associados, como já foi referido, ao aumento do risco de desenvolver diferentes tipos de cancro. Este aumento do risco geralmente é pequeno se não existir exposição aos compostos do fumo do tabaco, mesmo nos indivíduos homozigóticos para deleções destes genes, que se traduzem na ausência de função deste grupo de enzimas metabolizadoras de compostos. Contudo, o risco de desenvolver uma neoplasia aumenta significativamente com a interacção destes polimorfismos (dupla deleção de um dos genes que codificam enzimas do grupo GST) com o fumo do tabaco. De entre os polimorfismos de genes que codificam enzimas do grupo GST, a deleção do gene GST do tipo M1é a alteração que se associa mais consistentemente ao aumento do risco de desenvolver cancro (Saha et al., 2007).

NATs são enzimas de conjugação polimórficas (codificadas pelos genes NAT1 e NAT2), envolvidas na depuração de amins aromáticas por N-acetilação. Dependendo da presença ou ausência de uma variante em particular, os indivíduos podem ser classificados como acetiladores rápidos ou acetiladores lentos, o que, por sua vez, pode influenciar a incidência de cancro da bexiga. Foi demonstrado que um acetilador lento, correspondente ao genótipo NAT2, é um modificador importante da quantidade de ligações covalentes ADN-aminas aromáticas formadas, mesmo com uma pequena dose de exposição ao fumo do tabaco, o que significa que se a depuração das amins aromáticas é lenta, há uma maior acumulação destes compostos e daí resulta uma maior lesão celular (Saha et al., 2007). Foi sugerido um risco aumentado de cancro da bexiga em mulheres fumadoras com o genótipo de acetilador lento NAT2. No entanto, segundo Brockmöller et al. (1996), este genótipo não tem efeito demonstrado no aumento de risco de cancro da bexiga, em indivíduos não fumadores.

Pelo exposto as mutações hereditárias pré-existentes, desempenham um papel major na susceptibilidade ao cancro. Outro exemplo diz respeito à vulnerabilidade relacionada com genes supressores tumorais, nomeadamente, no gene p53, que têm sido também objecto de investigação na carcinogénese relacionada com o fumo do tabaco. Os carcinogéneos presentes no fumo do tabaco podem causar lesão directa sobre o gene supressor tumoral p53 levando a mutações e a perda dos mecanismos normais de controlo do crescimento celular (Saha et al., 2007; Hecht, 2008). Em adição a activação do proto-oncogene K-ras também parece relacionar-se com uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento de cancro em indivíduos fumadores (Saha et al., 2007).

Os organismos vivos estão expostos a inúmeros químicos estranhos de várias fontes ambientais, nomeadamente aos componentes do fumo do tabaco. Muitos destes compostos são relativamente pequenos e lipofílicos, e, pelas suas características, poderiam acumular-se

facilmente nas células e rapidamente atingir concentrações tóxicas ou letais se não fossem rapidamente eliminados. Para evitar esta acumulação e toxicidade sob stress químico, os organismos vivos desenvolveram formas de eliminar xenobióticos e prevenir a sua acumulação. Como já foi referido, uma destas formas de metabolização dos xenobióticos relaciona-se com a acção das enzimas de fase I e de fase II, com vista à sua eliminação. o que contribui para a ideia de que o ser humano tem uma capacidade variável para activar ou desactivar carcinogéneos. Parece que a maioria das enzimas metabolizadoras de carcinogéneos são activadas/ indutíveis por xenobióticos, aquelas variam a sua actividade de acordo com os estímulos ambientais (Pfeifer et al., 2002).

A possibilidade de um fumador desenvolver cancro está depende da concentração de carcinogéneos que fuma, e do seu perfil genético. Esta interacção gene-ambiente proporciona a possibilidade de definir perfis de risco individual, que seriam importantes para a identificação de sub-grupos com maior risco para a doença (Pfeifer et al., 2002).

O pulmão tem recebido uma atenção especial porque a sua etiologia, o tabagismo, está bem estabelecida, e este representa um importante modelo humano onde se pode estudar o porquê de alguns fumadores desenvolverem cancro do pulmão enquanto outros não (Pfeifer et al., 2002).

Assim como a idade, a exposição ao fumo do tabaco, função pulmonar deficiente, e história familiar, os factores genéticos têm um papel determinante na susceptibilidade ao cancro do pulmão (Young et al., 2009).

Acredita-se que estes factores genéticos conferem uma susceptibilidade inerente (resposta exagerada ou mal-adaptativa) à inflamação crónica causada pelo fumo do tabaco. Consistente com outros modelos de cancro, este estímulo inflamatório nos pulmões resulta em remodelação tecidular, lesão do ADN e um deficiente controlo do ciclo celular. Esta

remodelação celular resulta numa deficiente função pulmonar (ie. doença pulmonar obstrutiva crónica ou DPOC) que está presente em 50% ou mais dos casos de cancro do pulmão e é reconhecido como um dos mais importantes marcadores de risco de cancro do pulmão (Young et al., 2009).

A predisposição genética ao cancro do pulmão é provavelmente poligénica e heterogénea, isto é, é conferida por uma combinação variável de polimorfismos relativamente comuns com pequena penetrância e efeitos colaterais modestos. Mais ainda, é provável que importantes interacções entre tabaco e genes estejam na base do cancro do pulmão, como acontece em outros cancros relacionados com o tabaco, como o cancro da bexiga e do estômago (Young et al., 2009).

Variantes genéticas associadas a DPOC e a cancro do pulmão foram identificadas, e mais recentemente o locus do gene no cromossoma 15q25 (Young et al, 2009).

Na tabela II encontra-se sumariada a susceptibilidade para desenvolver cancro do pulmão, de acordo com 20 polimorfismos de um único nucleótido (SNP), numa análise univariável (Young et al., 2009).

O painel de 20 polimorfismos consiste em variantes genéticas reconhecidas como codificadoras de proteínas que estão na base de importantes vias implicadas na carcinogénese pulmonar, especificamente: o metabolismo dos carcinogénicos derivados do fumo do tabaco [N-acetiltransferase 2 e Citocromo P450 2E1 (CYP 2E1)], citocinas inflamatórias [interleucinas 1, 8 e 18 (IL-1B, 8,e 18), receptor de factor de necrose tecidual alfa 1 (TNFR1), toll-like receptor 9 (TLR9)], dependência fisiológica do tabaco [receptor D2 da dopamina (DRD2) e transportador 1 da dopamina (DAT1)], resposta anti-oxidante ao fumo do tabaco [α 1 anti-quimiotripsina e superóxido-dismutase extracelular (SOD3)], controlo do ciclo celular, reparação de ADN e apoptose (grupo D complementar Xeroderma Pigmentosum

(XPD), P73, Bcl-2, FasL, Cerberus 1 e REV1) e integrinas implicadas na apoptose (ITGA 11 e ITGB3). Um dos polimorfismos, da subunidade $\alpha 5$ do receptor nicotínico da acetilcolina ($\alpha 5nAChR$) foi recentemente associado quer a cancro do pulmão quer a DPOC. Este receptor parece estar directamente relacionado com os efeitos da nicotina na inflamação da via aérea. Como se pode ver, o painel de polimorfismos (tabela II) é feito de uma variedade de polimorfismos de genes implicados em diversas vias inter-relacionadas. Doze destes polimorfismos foram associados a cancro de pulmão também em outros estudos. É provável que outros polimorfismos também sejam futuramente identificados. (Young et al., 2009).

Tabela II- Painel de polimorfismos de um único nucleótido (SNP) e susceptibilidade para cancro do pulmão. Adaptado de: Young et al., 2009.

Polimorfismo	Genótipo	Fenótipo
A5-nAChR	AA	Susceptibilidade
	AG/GG	
CYP 2E1	TT/TC	Susceptibilidade
	CC	
Interleucina- 18	CC	Susceptibilidade
	CG/GG	
Interleucina- 8	TT	Susceptibilidade
	AT/AA	
Interleucina- 1B	GG	Susceptibilidade
	AA/AG	
ITGA 11	AA	Susceptibilidade
	GA/GG	
N-acetilcisteína transferase 2	GG	Susceptibilidade
	AA/AG	
$\alpha 1$- antitripsina	GG	Susceptibilidade
	AG/AA	
Cerberus 1	AA/AG	Susceptibilidade
	GG	
DAT 1	GG/TT	susceptibilidade
	GG	
TNFR1 (TNFRSF1A)	AA	Susceptibilidade
	AG/GG	
TLR9	CC	Susceptibilidade
	CT/TT	

P73 (TP73)	CC	Protecção
	TC/TT	
SOD3	GG/GC	Protecção
	CC	
ITGB3	GG/GA	Protecção
	AA	
DRD2	CDel/Del.Del.	Protecção
	CC	
BCL2	AA	Protecção
	AC/CC	
XPD (ERCC2)	GG	Protecção
	GT/TT	
REV1 (REV1L)	CC	Protecção
	TC/TT	
FasL (TNFSF6)	TT	Protecção
	TC/CC	

Primeiro, apesar da exposição ao fumo do tabaco ser essencialmente em pré-requisito para o desenvolvimento de cancro do pulmão, a idade avançada e função pulmonar deficiente têm efeitos independentes importantes na susceptibilidade ao cancro do pulmão. Segundo, é provável que os factores genéticos que estão na base do aumento risco de cancro do pulmão sejam poligénicos e heterogéneos, conferidos por uma combinação alternante de variações genéticas (i.e. polimorfismos de pequena penetrância que evidenciem poucos efeitos colaterais, e por isso podem passar despercebidos). Terceiro, os factores genéticos tanto podem conferir um fenótipo protector como susceptível de desenvolver cancro do pulmão. Quarto, o potencial efeito da DPOC como variável de confundimento foi tido em conta neste modelo (Young et al., 2009).

Existe evidência, apesar de limitada, de que o resultado do teste genético para identificação de possíveis alterações susceptíveis de aumentar o risco de cancro, pode possivelmente alterar positivamente o comportamento de fumadores, no contexto de cessação tabágica (aumento do número de tentativas e possivelmente aumento da taxa de sucesso da cessação tabágica), ou diminuindo a prevalência do tabagismo. (Young et al., 2009)

Fica assim a sugestão de que os dados genéticos podem ser combinados com outras variáveis de risco de fumadores e não-fumadores para identificar os indivíduos mais susceptíveis de desenvolver cancro do pulmão (Young et al., 2009).

Sendo o cancro uma doença multifactorial, diversos genes e exposições ambientais contribuem para o processo carcinogénico. Os efeitos podem ser aditivos ou multiplicativos, e são modificáveis pela diversidade da função genética (Owing, 2005). Não apenas os efeitos independentes de cada polimorfismo genético, mas uma conjugação de múltiplas interacções genéticas parecem estar envolvidas (Saha et al., 2007). A compreensão do mecanismo de cancro induzido pelo tabaco levará a novas estratégias para a diminuição do risco de cancro, através da identificação de indivíduos altamente susceptíveis, e pelo desenvolvimento de técnicas inovadoras de detecção precoce (Owing, 2005).

Carcinogéneos resultantes da combustão do tabaco

Desde o início do estudo da relação entre cancro e tabagismo, foram propostos como agentes causadores de cancro um número de compostos presentes no fumo do tabaco. Reconheceram-se também potenciais efeitos interactivos na complexa mistura do fumo do tabaco (Smith e Hansch, 2000).

O fumo do tabaco é um aerossol complexo de minúsculas partículas em estado líquido (chamada a fase particulada ou “tar”) em suspensão numa mistura de gases e compostos semi-voláteis (que em conjunto formam a fase gasosa) (Smith e Fisher, 2001; Smith et al., 2003). Alguns constituintes químicos, como o monóxido de carbono, dióxido de carbono e os óxidos de nitrogénio, encontram-se como gases na fase gasosa, enquanto outros, como a nicotina, os fitoesteróis predominam na fase particulada. Alguns compostos, como frenal e cresol

(fenólicos), são distribuídos entre a fase gasosa e a fase particulada e são denominados semi-voláteis (Guerin et al., 1992. Smith e Fisher, 2001; Smith et al., 2003)

Tendo em conta o peso dos componentes do fumo do cigarro, a fase gasosa juntamente com o ar representa 95,5% de todo o fumo do cigarro (figura 13). Destes, 82% correspondem componentes do ar, e 13,5% correspondem a componentes provenientes da pirólise e combustão do tabaco. Por sua vez, destes 13,5%, 90% do peso são de água e monóxido de carbono. Os restantes 10% da fase gasosa (1,3% de todo o fumo do tabaco) representam os componentes do fumo derivados do tabaco. Concomitantemente, apenas 4,5% de todo o fumo do tabaco é material da fase particulada. Se o contributo da água for removido do peso da matéria da fase particulada, assim, esta constituirá 3,6% do peso de todo o fumo do tabaco (Dube e Green, 1982; Baker, 1999; Smith et al., 2003).

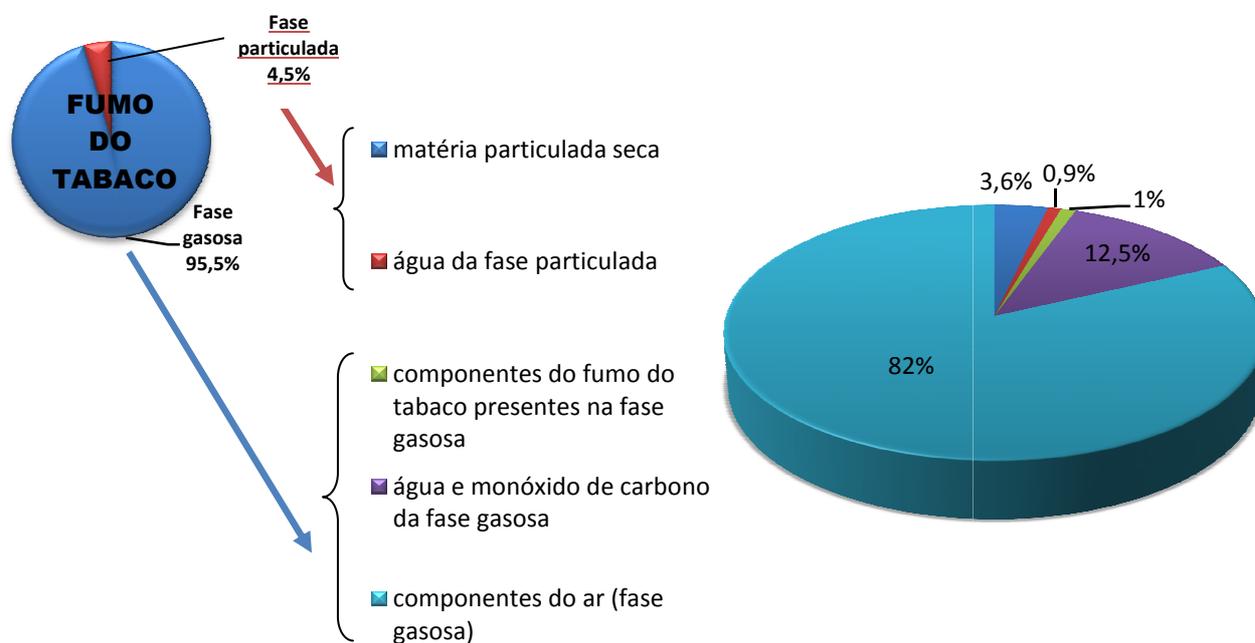


Figura 13- Composição do fumo do tabaco.

Percentagem relativa da fase gasosa vs fase particulada e composição de cada uma destas fases.

Já em 1982, de acordo com Dube e Green estavam identificados pelo menos 4000 compostos no fumo do cigarro (Smith e Hansch, 2000) e em 1996 o número subia para 4800 (Green e Rodgman, 1996; Smith et al., 2003).

A Agência internacional para Pesquisa sobre Cancro (IARC) classificou, em 1985, a complexa mistura do fumo do tabaco como carcinogéneo do grupo 1 (reconhecidamente cancerígeno para o homem), adicionalmente, classificou também como carcinogéneos um número de constituintes químicos do fumo do tabaco, isoladamente (Smith et al., 2003).

Foi recentemente expandida a lista de carcinogéneos presentes no fumo do tabaco e reconhecidos pela IARC. Assim, o número de carcinogéneos presentes no fumo do tabaco e classificados pela IARC ascendem de 68 para 81 em 2009 (Tabela III). Deste, 11 pertencem ao grupo 1 da IARC (reconhecidos como carcinogéneos para o homem), 14 pertencem ao grupo 2A (prováveis carcinogéneos para o homem), e os restantes 56 fazem parte do grupo 2B da IARC (possíveis carcinogéneos para o homem). Uma parte dos compostos referidos pela IARC, presentes no fumo do tabaco é encontrados na fase gasosa, incluindo 3 compostos do grupo 1, 8 compostos do grupo 2A e 18 compostos do grupo 2B. Outros encontram-se em ambas as fases do fumo do tabaco, fase gasosa e fase particulada, incluindo 2 compostos do grupo 1, 1 do grupo 2A e um do grupo 2B. Quarenta e oito compostos IARC do fumo do tabaco encontram-se apenas na fase particulada (Smith et al., 2003).

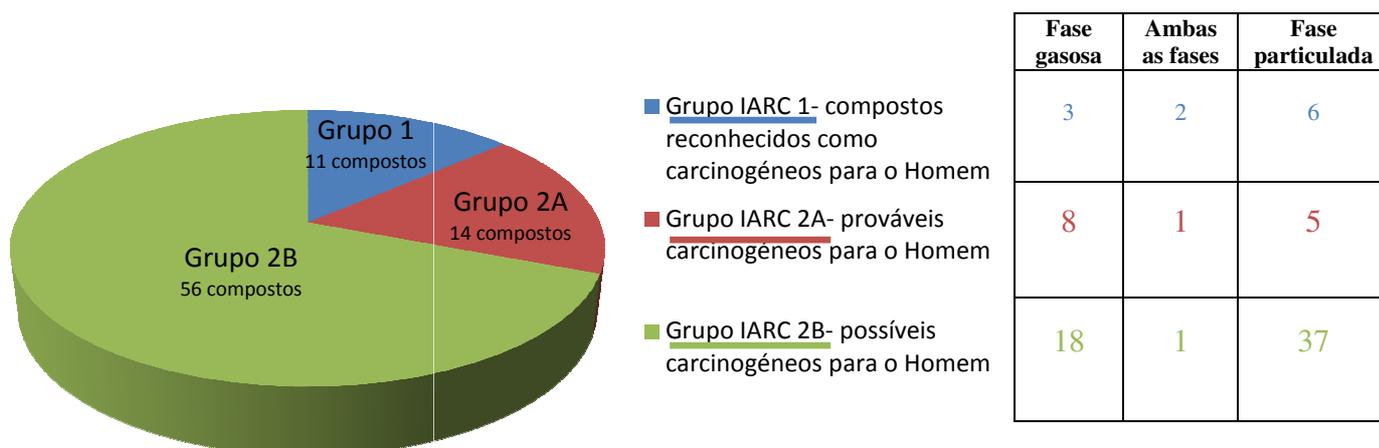


Figura 14- Distribuição dos 81 compostos carcinogénicos do fumo tabaco de acordo com os grupos definidos pela IARC. Fase do fumo do tabaco em que se encontram esses compostos.

Existem e são usados correntemente bastantes e diversos testes para avaliar a toxicidade de compostos químicos e misturas complexas como o condensado do fumo do tabaco. Testes *in vivo* incluem ensaios em roedores para determinar a carcinogenicidade, tumorigenicidade e efeitos reprodutivos. Testes de mutagenicidade *in vitro* baseam-se na utilização de sistemas celulares bacterianos e de mamíferos (Smith e Hansch, 2000).

Os condensados desta complexa mistura que é o fumo do tabaco evidenciaram toxicidade e mutagénese em vários testes *in vitro*, incluindo: mutagénese bacteriana (ensaio Salmonela/Ames); aberrações cromossómicas em células ováricas de “hamsters” Chineses; trocas de cromátides irmãs em células ováricas de “hamsters” Chineses; uma síntese imprevista de ADN em hepatócitos de ratos (Doolittle et al., 1990; Lee et al., 1990). Em estudos *in vivo*, o condensado do fumo do tabaco aplicado repetitivamente na pele de roedores produziu tumores, benignos e malignos (Hoffmann et al., 1983; Smith e Hansch, 2000).

Contudo, a extrapolação directa dos resultados de actividade biológica do condensado do fumo do tabaco para a exposição ao fumo de cigarros no Homem é inapropriada devido às diferenças na composição química e nas propriedades físico-químicas e nas concentrações

(Smith e Hansch, 2000). O condensado do fumo do tabaco contém a fase particulada do fumo do tabaco. Este condensado não contém os gases associados à fase gasosa do fumo do cigarro. O condensado do fumo do cigarro tem também uma contribuição reduzida de componentes semi-voláteis da fase gasosa que se podem dissolver ou dispersar nos componentes da fase particulada do fumo do cigarro, pelo que os estudos baseados apenas na utilização do condensado do fumo do tabaco são limitados, uma vez que o fumo do tabaco é muito mais que apenas a sua fase particulada (Wynder et al., 1967; Pillsbury et al., 1969; Dube e Green, 1982; Smith et al., 2003).

Um primeiro passo para reduzir a toxicidade do condensado do fumo do tabaco é a identificação dos seus componentes. Contudo, alterar a concentração de um determinado componente do fumo do tabaco pode não alterar linearmente a actividade biológica desta complexa mistura devido a efeitos interactivos. A “toxicidade efectiva” de um constituinte químico é função da sua concentração, da sua acção metabólica, da toxicidade em ensaios *in vivo* e *in vitro*, e da capacidade de atingir os tecidos alvo (Smith e Hansch, 2000).

A lipofilia, medida pelo logaritmo de base 10 do coeficiente de partição calculado de octanol-água (P), e denotado como log P, está incluída como um possível factor contributivo para a “toxicidade efectiva”. O log P correlaciona-se com uma série de actividades biológicas, incluindo mutagenicidade *in vitro* e carcinogenicidade em roedores (Debnath et al., 1994). Os compostos lipofílicos podem atravessar barreiras biológicas que contenham lípidos, por exemplo, membranas celulares ou microssomáticas e estrato córneo da pele (Tayar et al., 1991). Desta forma, o log P influencia o destino metabólico, a actividade biológica intrínseca e as propriedades de transporte biológico dos químicos (Hansch e Leo, 1995a; Smith e Hansch, 2000). Na ausência de dados toxicológicos e epidemiológicos adicionais, um composto com log P elevado é mais provavelmente carcinogénico do que um composto com

log P baixo, porque possui uma elevada lipofilia que se traduz numa maior capacidade de atravessar barreiras biológicas que contenham lípidos, como a membrana das células, ou seja, atingem mais facilmente o alvo para a carcinogénese, a célula (Smith et al., 2003).

A relação entre log P e a toxicidade por vezes não é linear. Enquanto os rins excretam compostos hidrofílicos mais facilmente do que compostos hidrofóbicos (Rozman e Klaassen, 1996), várias vias metabólicas no fígado procuram converter compostos hidrofóbicos em espécies hidrofílicas (Parkinson, 1996). Ocasionalmente, esta tentativa de depuração leva à formação de metabolitos reactivos electrofílicos que podem ligar-se ao ADN e às proteínas (Hoffmann, 1996). Assim, muitos compostos hidrofóbicos são inadvertidamente convertidos a espécies químicas com toxicidade aumentada. Este processo é facilitado por valores de log P elevados (Smith e Hansch, 2000).

Assim, enquanto o valor de log P é geralmente predictivo de toxicidade, o espectro de valores de log P associados a maior toxicidade é influenciado quer pela estrutura química do composto, quer pelo tipo particular de toxicidade do composto, nomeadamente, se é carcinogénico, se tem efeitos reprodutivos ou uma combinação das três acções (Smith e Hansch, 2000).

Uma análise dos valores de log P calculados, para todos os compostos orgânicos (não apenas os componentes do fumo do tabaco) classificados pela IARC como carcinogénicos do grupo 1 ou do grupo 2A mostrou várias excepções ao facto de o valor de logP se traduzir em maior toxicidade do composto (Smith et al., 2003). Quatro dos 22 químicos orgânicos do grupo 1 da lista IARC são hidrofílicos, incluindo 1,4-butanediol dimenissulfato, óxido de etileno, melfalan, e treosulfan. Similarmente, dez dos 42 químicos orgânicos do grupo 2^a da lista IARC são hidrofílicos, incluindo acrilamida, azacitidina, clorozotocina, 1,2-

dimetilhidrazina, glicidol, metilmetanosulfonato, N-metil-NO, N-nitrosoguanidina, N-metil-N-nitrosourea, N-nitrosodimetilamina e hidróclorido de procarbазina (Smith et al., 2003).

Assim, devem ser considerados a exposição à substância, a sua disponibilidade biológica (log P), a reactividade eléctrica intrínseca, e uma variedade de respostas tóxicas medidas, para avaliar a toxicidade relativa de cada componente individual na complexa mistura que é o fumo do tabaco, uma vez que todas estas características concorrem para uma maior toxicidade da substância (Smith e Hansch, 2000).

Foram reportados como lipofílicos, associados a uma maior facilidade de penetração nas células, e por conseguinte maior potencial de toxicidade, os 71 compostos não metálicos do fumo do tabaco identificados como carcinogénicos pela IARC. A tabela III mostra a lista dos 81 constituintes do fumo do tabaco classificados pela IARC como carcinogénicos dos grupos 1, 2A e 2B, assim como a sua estrutura molecular, a fase do fumo do tabaco em que se encontram, e o valor de log P de 71 compostos desta lista, dos compostos não-metálicos presentes no fumo do tabaco (Smith et al., 2003).

A lista dos 81 componentes do fumo do tabaco classificados como carcinogénicos IARC é baseada na avaliação de cigarros internacionais, assim como de cigarros “caseiros”, e abrange uma vasta gama de cigarros de diferentes marcas. A lista da IARC é também cumulativa com bases históricas. Não é, por isto, de esperar encontrar num único cigarro a totalidade dos 81 compostos cancerígenos IARC. (Smith et al., 2003)

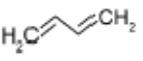
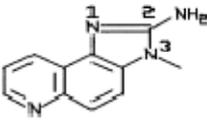
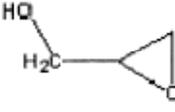
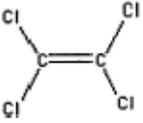
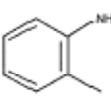
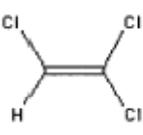
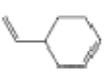
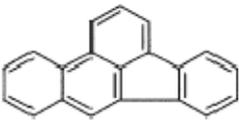
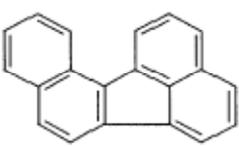
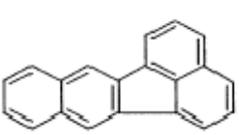
O objectivo de desenvolver esta lista com atenção aos valores de log P foi fornecer uma base de dados inicial dos constituintes do fumo do tabaco, para os Criadores de produtos tabágicos, Químicos, Acessores de risco e Oficiais de saúde pública, focando uma possível inibição, remoção ou monitorização de compostos específicos (Smith et al., 2003).

Tabela III- Compostos carcinogénicos identificados pela IARC respeitantes ao fumo do tabaco.

Nome do composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Fase gasosa (V), particulada (P), ou em ambas (B)	Log P
IARC 1				
4-aminobifenil		C ₁₂ H ₁₁ N	P	2.803
Arsénico		As	P	
Benzeno		C ₆ H ₆	V	2.142
Berílio		Be	P	
Cádmio		Cd	P	
<i>Compostos de crómio (VI)</i>				
2- naftilamina		C ₁₀ H ₉ N	B P	2.089
<i>Compostos de níquel</i>				
Cloreto de vinil		C ₂ H ₃ Cl	B V	1.521
Óxido de etileno		C ₂ H ₄ O	V	-0.272
Radão-222 e seus produtos de decaimento		²¹⁰ Po	P	
IARC 2A				
Formaldeído		CH ₂ O	V	0.35
Benzo(a)pireno		C ₂₀ H ₁₂	P	6.124
Dibenz(a,h)antraceno		C ₂₂ H ₁₄	P	6.838
N- Nitrosodietilamina (DEN)		C ₄ H ₁₀ N ₂ O	V	0.44
Benz(a)antraceno		C ₁₈ H ₁₂	P	5.664
N-Nitrosodimetilamina(DMN)		C ₂ H ₆ N ₂ O	V	-0.618
Acrilamina		C ₃ H ₅ NO	V	-0.609

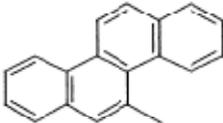
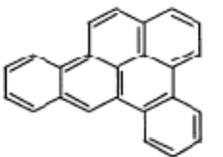
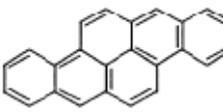
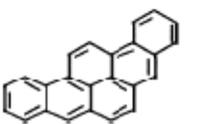
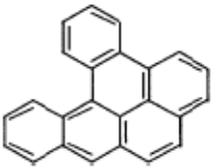
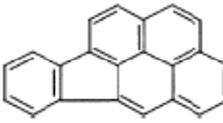
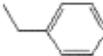
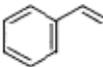
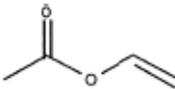
(Continua na próxima página)

(Continuação)

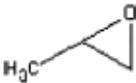
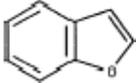
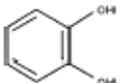
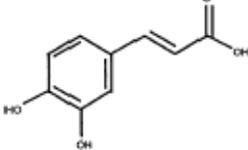
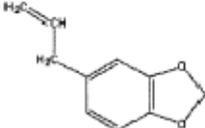
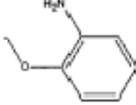
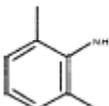
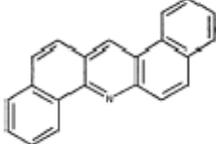
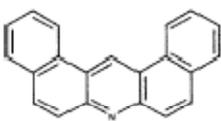
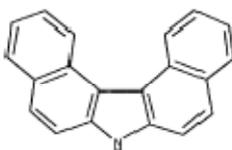
Nome do composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Fase gasosa (V), particulada (P), ou em ambas (B)	Log P
1,3- Butadieno		C ₄ H ₆	V	1.902
IQ (2-amino-3-metil-3H-imidazol(4,5-f)quinolina)		C ₁₁ H ₁₀ N ₄	P	1.318
Glicidol		C ₃ H ₆ O ₂	V	-0.96
Mostarda nitrogenada		C ₅ H ₁₁ Cl ₂ N	B	
Tetracloroetileno		C ₂ Cl ₄	V	3.48
o-Toluidina (2-metilanilina)		C ₇ H ₉ N	P	1.364
Tricloroetileno		C ₂ HCl ₃	V	2.627
IARC 2B				
<i>Hidrocarbonetos</i>				
<i>Alifáticos ou monocíclicos</i>				
Isopreno		C ₅ H ₈	V	2.301
4-vinilciclohexeno		C ₈ H ₁₂	V	3.434
<i>Hidrocarbonetos Policíclicos</i>				
Benzo(b)fluoranteno		C ₂₀ H ₁₂	P	6.124
Benzo(f)fluoranteno		C ₂₀ H ₁₂	P	6.124
Benzo(k)fluoranteno		C ₂₀ H ₁₂	P	6.124

(Continua na próxima página)

(Continuação)

Nome do composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Fase gasosa (V), particulada (P), ou em ambas (B)	Log P
5-Metil-criseno		C ₁₉ H ₁₄	P	6.163
Dibenzo(a,e)pireno		C ₂₄ H ₁₄	P	7.298
Dibenzo(a,h)pireno		C ₂₄ H ₁₄	P	7.298
Dibenzo(a,i)pireno		C ₂₄ H ₁₄	P	5.586
Dibenzo(a,l)pireno		C ₂₄ H ₁₄	P	7.298
Indeno(1,2,3-cd)pireno		C ₂₂ H ₁₂	P	6.584
<i>Hidrocarbonetos Aromáticos</i>				
Etilbenzeno		C ₈ H ₁₀	V	3.17
Estireno		C ₈ H ₈	V	2.866
<i>Compostos de oxigénio</i>				
Acetaldeído		C ₂ H ₄ O	V	-0.224
Furano		C ₄ H ₄ O	V	1.318
Acetato de vinil		C ₄ H ₆ O	V	0.757

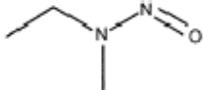
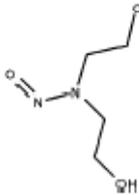
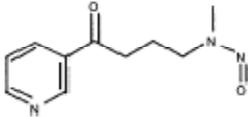
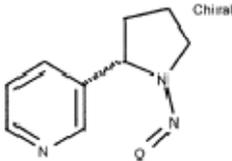
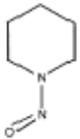
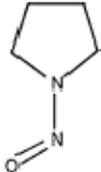
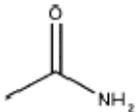
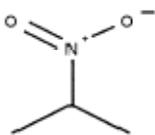
(Continua na próxima página)

Nome do composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Fase gasosa (V), particulada (P), ou em ambas (B)	Log P
Óxido de propileno		C ₃ H ₆ O	V	0.247
Benzo(b)furano		C ₈ H ₆ O	P	2.702
Catecol (1,2-benzenodiol)		C ₆ H ₆ O ₂	P	0.878
Ácido 3,4-Dihidroxicinâmico (ácido caffeic)		C ₉ H ₈ O ₄	P	0.975
Safrole		C ₁₀ H ₁₀ O ₂	P	3.18
<i>Compostos nitrogenados</i>				
<i>Aminas aromáticas</i>				
o- anisidina		C ₇ H ₉ NO	P	1.184
p-cloroanilina		C ₆ H ₆ ClN	P	1.908
2,6-xilidina (2,6-dimetilanilina)		C ₈ H ₁₁ N	P	1.813
<i>Aza-arenos</i>				
Dibenz(a,h)acridina		C ₂₁ H ₁₃ N	P	5.761
Dibenz(a,j)acridina		C ₂₁ H ₁₃ N	P	5.761
7H-Dibenz(c,g)carbazol		C ₂₀ H ₁₃ N	P	5.864

(Continua na próxima página)

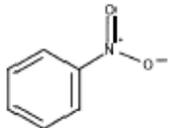
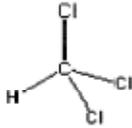
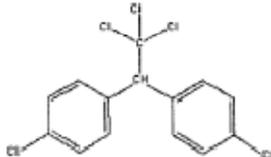
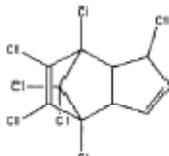
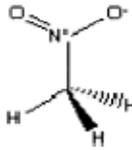
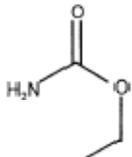
Nome do composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Fase gasosa (V), particulada (P), ou em ambas (B)	Log P
<i>Aminas N-Heterocíclicas</i>				
2-Aminodipiridol(1,2-a:3',2'-d)imidazole (Glu-P-2)		C ₁₀ H ₈ N ₄	P	1.777
2-Amino-6-metildipiridol(1,2-a:3',2'-d)imidazole (Glu-P-1)		C ₁₁ H ₁₀ N ₄	P	2.276
2-Amino-1-metil-6-fenil-1H-imidazol(4,5-b)piridina (PhIP)		C ₁₃ H ₁₂ N ₄	P	2.292
2-Amino-3,4-dimetil-6-fenil-3H-imidazol(4,5-f)quinolina (MeIQ)		C ₁₂ H ₁₂ N ₄	P	1.817
2-Amino-9H-piridol(2,3-b)indol (Aac)		C ₁₁ H ₉ N ₃	P	2.232
2-Amino-3-metil-9H-piridol(2,3-b)indol (MeAac)		C ₁₂ H ₁₁ N ₃	P	2.681
3-Amino-1,4-dimetil-5H-piridol(4,3-b)indol (Trp-P-1)		C ₁₃ H ₁₃ N ₃	P	2.574
3-Amino-1-metil-5H-piridol(4,3-b)indol (Trp-P-2)		C ₁₂ H ₁₁ N ₃	P	2.731
<i>Nitrosaminas</i>				
N-Nitrosodi-n-butilamina (NDBA)		C ₈ H ₁₈ N ₂ O	V	2.556
N-Nitrosodi-n-propilamina (NDPA)		C ₆ H ₁₄ N ₂ O	V	1.498

(Continua na próxima página)

Nome do composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Fase gasosa (V), particulada (P), ou em ambas (B)	Log P
N-Nitrosoetilmetilamina (NEMA, MEN)		$C_3H_8N_2O$	V	-0.089
n-Nitrosodietiletanolamida (NDELA)		$C_4H_{10}N_2O_3$	V	-1.511
4-(N-Nitrosometilamino)-1-(3-pyridinil)-1-butanona (NNK)		$C_{10}H_{13}N_3O_2$	P	0.365
N-Nitrosornicotina (NNN)		$C_9H_{11}N_3O$	P	0.557
N-Nitrosopiperidina (NPIP, NPP)		$C_5H_{10}N_2O$	B	0.455
N-Nitrosopirrolidina (NPYR, NPY)		$C_4H_8N_2O$	V	-0.104
<i>Compostos mistos</i>				
Acetamida		C_2H_5NO	P	-1.114
Acrilonitrilo		C_3H_3N	V	0.291
2-Nitropropano		$C_3H_7NO_2$	V	0.554

(Continua na próxima página)

(Continuação)

Nome do composto	Estrutura molecular	Fórmula molecular	Fase gasosa (V), particulada (P), ou em ambas (B)	Log P
Nitrobenzeno		$C_6H_5NO_2$	P	1.885
Clorofórmio		$CHCl_3$	V	1.952
p,p'- DDT		$C_{14}H_9Cl_5$	P	6.763
Heptacloro		$C_{10}H_5Cl_7$	P	5.445
Nitrometano		CH_3NO_2	V	-0.284
Uretano (ácido carbâmico, ester de etilo)		$C_3H_7NO_2$	P	-0.175
<i>Compostos inorgânicos, Inorgânicos e metais</i>				
Hidrazina	H_2N-NH_2	H_4N_2	V	-1.684
Cobalto		Co	P	
Chumbo		Pb	P	

A determinação da toxicidade de compostos químicos através da literatura disponível não é um processo exacto (Smith e Hansch, 2000). Assim, existem publicações que demonstram que a toxicidade do fumo do cigarro e do condensado do fumo do cigarro não podem ser calculados com base na simples adição ou subtracção da toxicidade de um composto individual (Smith et al., 2003). Apesar de ter sido demonstrada toxicidade *in vitro* dos compostos do fumo do tabaco e a sua toxicidade *in vitro* poder ser comparada de forma relativa, esta comparação de “toxicidades” não pode ser extrapolada para a acção dos compostos no organismo humano (Smith e Hansch, 2000).

Apesar de alguns fumadores considerarem que o uso do cachimbo de água é menos prejudicial relativamente aos cigarros, devido aos filtros de água, um estudo demonstrou que os fumadores que trocam os cigarros pelo cachimbo de água podem mesmo expor-se a quantidades superiores de hidrocarbonetos policíclicos (PAHs) e de monóxido de carbono. Apesar de não haver muitos dados relativos a este tipo de consumo de tabaco, a informação recolhida indica que o cachimbo de água contém em abundância vários dos tóxicos considerados responsáveis por uma maior propensão dos fumadores de cigarros ao cancro, bem como a doenças cardio-vasculares e adicção (Shihadeh e Saleh, 2005).

Assim, em forma de conclusão, e tendo como base e ponto de partida a lista de 1986 da IARC, os compostos apresentados no decorrer deste tópico, podem apresentar-se úteis na tentativa de reduzir a actividade biológica do fumo do tabaco, e desta forma, os seus efeitos nocivos no organismo humano. Ao conhecer os compostos carcinogéneos do fumo do tabaco, as suas propriedades e toxicidade, torna-se possível intervir na composição do próprio cigarro, com vista, por exemplo, à diminuição da concentração destes compostos ou alteração das suas propriedades (Smith e Hansch, 2000).

Carcinogénese induzida pelo fumo do tabaco

Como já foi referido, o cancro é uma doença multifactorial, resultando da interacção entre factores genéticos e ambientais.

No entanto, a abordagem à interacção gene-ambiente nos diversos tipos de cancro relacionados com o tabaco é mais complexa do que aparenta. Este aspecto prende-se com a multiplicidade de genes envolvidos no metabolismo dos componentes do fumo do tabaco, com a quantidade e tipo de substratos metabolizados pelos genes envolvidos, a enorme diversidade dos componentes do fumo do tabaco, e a interacção do fumo do tabaco noutras vias metabólicas (Taioli, 2008).

O sistema respiratório constitui a principal porta de entrada do fumo do tabaco no organismo, quer através de tabagismo activo (directamente inalado do cigarro pelo fumador) ou de tabagismo passivo (inalado do ar ambiente). Contudo, alguns constituintes deste fumo dissolvem-se na saliva e são absorvidos ou deglutidos. As bebidas alcoólicas funcionam como solventes para os constituintes do fumo do tabaco, facilitando desta forma a sua absorção. Virtualmente, todos os órgãos e tecidos são atingidos pelos metabolitos activos do fumo do tabaco. Estes órgãos/tecidos podem ser atingidos através do contacto directo com os constituintes do fumo do tabaco, como acontece no cancro da boca e da laringe, do pulmão, do esófago e do estômago, ou também através dos produtos cancerígenos transportados na corrente sanguínea, como no caso do cancro do pâncreas e da leucemia mielóide aguda. Os órgãos afectados podem ainda ser atingidos pelos metabolitos do fumo do tabaco aquando da sua excreção, como é o caso do cancro da bexiga (Hoffmann et al., 2002; Taioli, 2008). A figura 15 representa o esquema de um cigarro onde é visível a diferença entre o fumo inalado pelo fumador activo e o fumo inalado pelo fumador passivo. Enquanto no tabagismo activo o fumador inala directamente o fumo resultante da combustão e pirólise do tabaco, apesar de

filtrado. O fumador passivo inala não só o fumo resultante da combustão do tabaco, mas também o fumo exalado por quem fuma o cigarro. Assim, também os fumadores passivos estão expostos aos efeitos nocivos do fumo do tabaco.

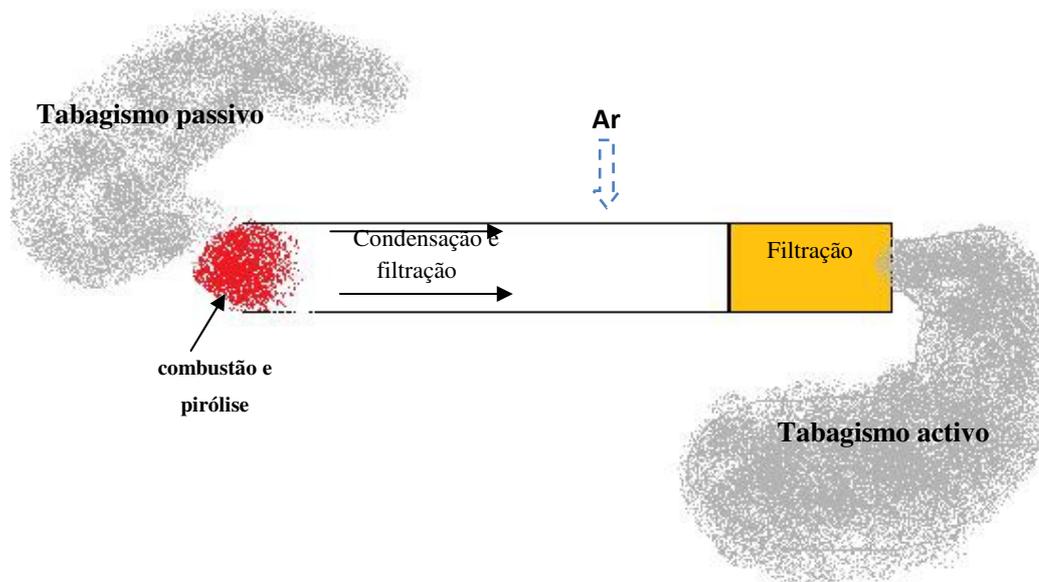


Figura15- Esquema de um cigarro representativo da diferença entre o fumo inalado pelo tabagismo activo e pelo tabagismo passivo. Adaptado de: Chaouachi, 2009.

A carcinogénese é um processo com várias etapas, que tem na sua base a lesão genética e transformação epigenética nas células alvo, induzida por carcinogéneos. Como resultado, as células adquirem uma maior capacidade de crescimento e multiplicação e resistência à apoptose. Será muito difícil identificar detalhadamente os mecanismos pelos quais o fumo do tabaco provoca cancro. Existem, contudo, princípios gerais que surgiram da pesquisa intensiva nas últimas quatro-cinco décadas. A via mais provável através da qual o tabaco provoca cancro, com base na informação disponível, está representada na figura 16. Assim, com o consumo continuado de tabaco, dá-se a exposição aos carcinogéneos do fumo do tabaco. Estes compostos são metabolizados por enzimas da fase I e da fase II e desta forma são activados ou depurados, respectivamente. Os carcinogéneos depurados são excretados,

enquanto que os carcinogénios activados vão provocar lesão celular, nomeadamente ligando-se covalentemente ao ADN. Estas lesões são passíveis de serem reparadas por mecanismos celulares, no entanto, se tal não acontecer, permanece a lesão de ADN. Neste caso, a célula pode entrar em apoptose, a morte celular programada, ou então outras lesões tais como mutações e outras alterações genéticas vão-se acumulando, o que culmina no desenvolvimento da neoplasia (Owing, 2005).

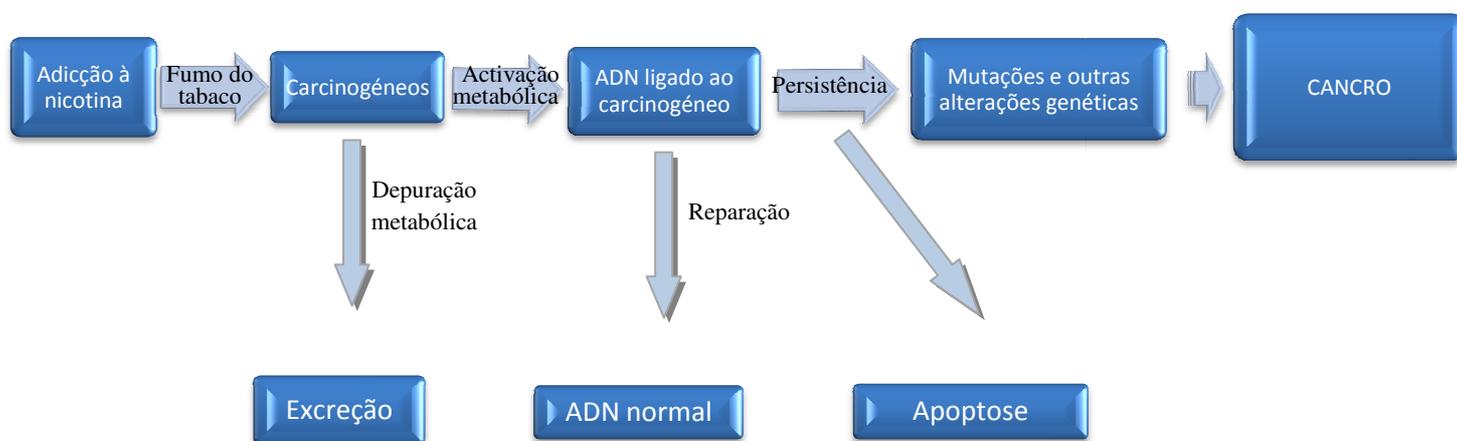


Figura 16- Esquema ilustrativo de um possível processo de carcinogénese induzida pelo fumo do tabaco. Adaptado de: Owing, 2005.

Os compostos do fumo do tabaco, uma vez no organismo, são metabolizados, no fígado, num processo em duas fases, já desenvolvido nesta exposição. A fase I, envolve a activação do composto carcinogénico pelas enzimas codificadas pela superfamília de genes de citocromo P450 (CYP). Estas enzimas estão envolvidas no metabolismo oxidativo de múltiplos compostos exógenos, fármacos e hormonas endógenas. O citocromo P450 1A1 é responsável pelo primeiro passo no metabolismo dos hidrocarbonetos poliaromáticos. Outras enzimas, tais como CYP2C9, CYP1B1 e CYP2D6, são responsáveis pela activação do benzo(a)-pireno e nitrosamina 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona, enquanto que a enzima CYP2E1 metaboliza a 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona (Taioli, 2008).

Durante a fase II deste processo, os carcinogéneos são transformados em elementos hidrofílicos para facilitar a sua excreção. As enzimas GST são, em grande parte, responsáveis por este processo. Esta superfamília de genes contribui para a depuração dos carcinogéneos do fumo do tabaco, assim como de outras fontes (Taioli, 2008).

A reparação das lesões de ADN está na dependência de uma série de genes especializados nesta função. Vários polimorfismos destes genes foram identificados, mas o seu impacto no fenótipo de reparação e na susceptibilidade ao cancro permanece por esclarecer (Manuguerra et al, 2006. Taioli, 2008).

Assim, as enzimas de fase I induzem a transformação de procarcinogéneos em carcinogéneos, enquanto as enzimas de fase II conjugam estes compostos e tornam-os adequados para serem eliminados. É então razoável pensar-se que o efeito carcinogénico dos componentes do fumo do tabaco é em parte o resultado da acção combinada destas duas categorias de enzimas (Taioli, 2008).

As alterações genéticas que resultam em expressão aberrante de genes são uma característica da transformação neoplásica. A aneuploidia e a instabilidade cromossómica são as duas anomalias mais comuns nas células cancerígenas e resultam de uma segregação desigual entre as células filhas durante a mitose, o que torna as alterações mitóticas altamente relevantes na carcinogénese (Landi et al., 2008). As alterações genéticas das células cancerígenas podem ser traduzidas por mutações, alterações nos marcadores epigenéticos, lesões cromossómicas e encurtamento de telómeros (Matters, 2007).

Como os agentes externos e as funções celulares normais, como a mitose, sujeitam o genoma a frequentes e diversas agressões, a célula humana desenvolveu uma bateria de mecanismos de defesa que (a) participam no sentido de minimizar a lesão (incluindo a inibição de reacções oxidativas por ligação de radicais livres e a depuração de potenciais

mutagêneos), (b) reparam as lesões ou (c) removem as células lesionadas por apoptose (morte celular programada). Quando estas defesas falham e o tumor se estabelece (carcinoma *in situ*), continuam a acumular-se lesões genéticas e alterações da expressão dos genes, e o tumor continua a crescer (invasão). Esta desregulação na qual as células do tumor, que por crescerem rapidamente não têm suplemento sanguíneo suficiente e sofrem anoxia, levam ao desenvolvimento de novos vasos sanguíneos, a angiogénese. Como resultado do escape aos limites do local inicial do tumor e do estabelecimento de colónias em qualquer outra localização do organismo ocorre a metastização (Matters, 2007). A figura 17 ilustra todo este processo.

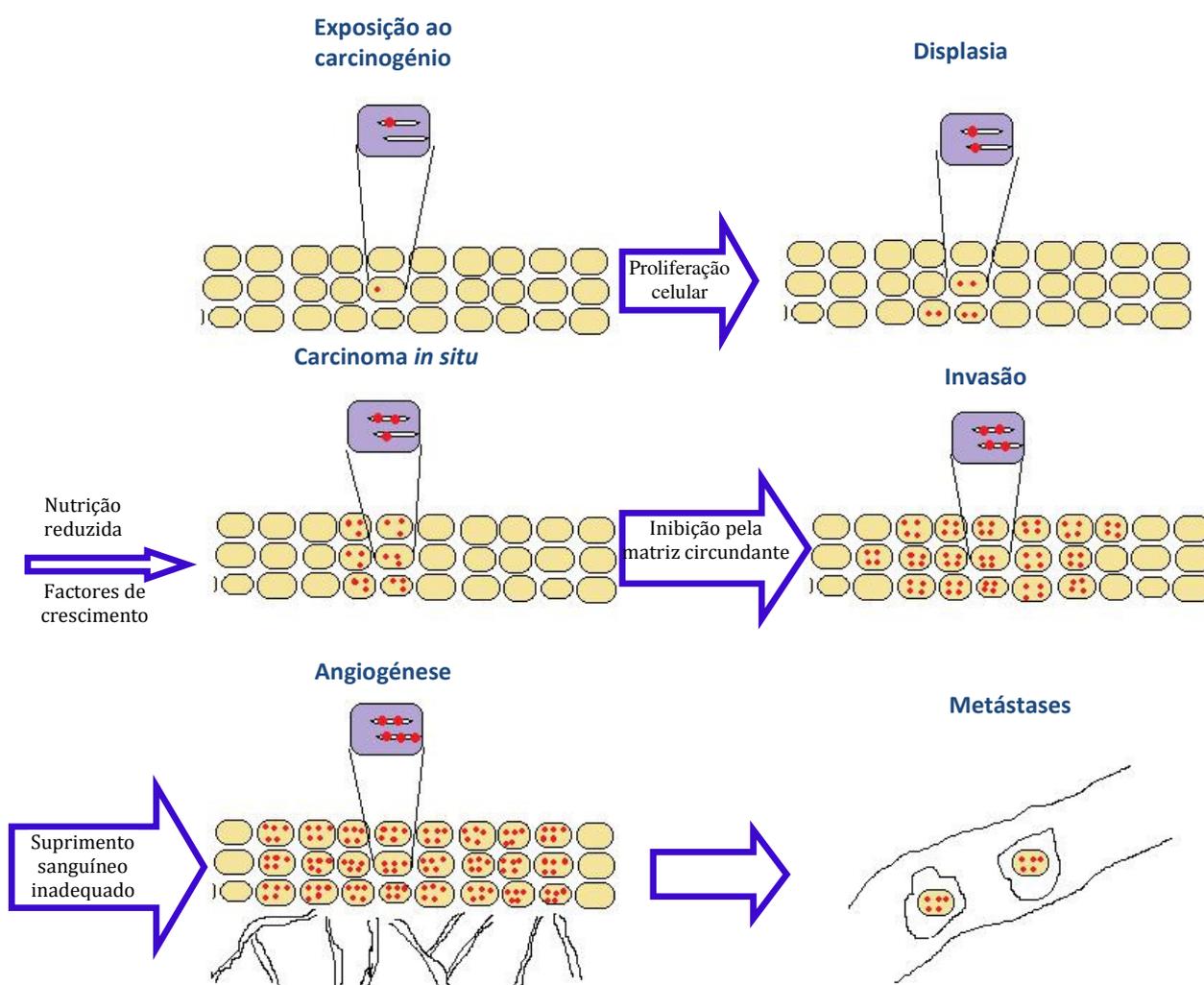


Figura 17- Evolução do processo carcinogénico desde a exposição ao carcinogénio até à metastização. Adaptado de: Loeb e Loeb, 2000.

Durante o desenvolvimento do cancro, vários genes supressores tumorais são silenciados (por mutações e por mecanismos epigenéticos) enquanto que os oncogenes são inapropriadamente expressos.

As alterações do ADN-mitocondrial também desempenham um papel na carcinogénese, e são encontradas em diversos tipos de cancro relacionados com tabagismo. Para além das mutações provocadas pelos carcinogénicos ao nível do ADN nuclear, estas também ocorrem ao nível do ADN mitocondrial que carece de reparação. Estudos evidenciaram que as células de fumadores possuem mais ADN mitocondrial, quando comparadas com células de não fumadores. Este aumento da quantidade de ADN mitocondrial poderá ser um mecanismo compensatório em resposta à lesão oxidativa induzida pelo fumo do tabaco (Tan et al., 2008).

Para a maioria das neoplasias, a evolução temporal contribui como um dos principais factores etiológicos, no sentido em que a acumulação de lesões genéticas é fundamental durante a carcinogénese. Assim, no processo de envelhecimento há uma deterioração da manutenção da integridade genómica (Matters, 2007).

Há evidência crescente de que nas células eucarióticas, o ADN está sujeito à acção contínua de lesões e reparações. Existe um equilíbrio homeostático no qual as lesões recorrentes de ADN são contrabalançadas pelas múltiplas vias de reparação de ADN. As lesões de ADN provocadas por químicos podem dividir-se em duas categorias: (i) aquelas que produzem grandes aglomerados de ADN ligado covalentemente a carcinogénicos e são reparadas pela via de excisão de nucleótidos; (ii) aquelas que causam pequenas alterações, tais como agentes alquilantes que adicionam grupos metil e etil aos nucleotídeos de ADN, e são reparadas pela via de excisão de bases nucleicas (Loeb e Loeb, 2000).

Levando em consideração a elevada frequência a que ocorrem as lesões do ADN e a estrutura compacta e inacessível da cromatina humana, é provável que uma percentagem significativa destas lesões escape à reparação do ADN e produzam mutações durante a replicação não sendo reparado pelas ADN-polimerases. Em células normais, a maioria das lesões de ADN são reparadas sem erro (Loeb e Loeb, 2000).

As alterações genéticas que ocorrem no processo de carcinogénese são geralmente eventos somáticos, contudo, mutações da linha germinativa podem aumentar a predisposição para cancro hereditários (Croce, 2009).

Os tumores possuem clones citogeneticamente diferentes que resultam da célula inicial transformada através de alterações genéticas secundárias e terciárias, isto é, a acumulação sucessiva de mutações diferentes em células diferentes o que origina vários clones dentro do mesmo tumor. Esta heterogeneidade dos clones contribui para as diferenças no comportamento clínico e nas respostas ao tratamento de tumores com o mesmo tipo histológico (Croce, 2009).

Os oncogenes codificam proteínas que controlam a proliferação celular, a apoptose ou ambas. Estes genes podem ser activados por alterações estruturais resultantes de mutações ou fusão de genes, por justaposição, ou por amplificação. As translocações e mutações podem ocorrer como eventos iniciais, ou durante a progressão tumoral, enquanto as amplificações geralmente ocorrem durante a progressão. Os produtos dos oncogenes podem ser classificados em seis grupos: factores de transcrição, remodeladores de cromatina, factores de crescimento, transdutores de sinais, e reguladores apoptóticos. A activação de oncogenes por rearranjos cromossómicos, mutações e amplificação de genes, confere vantagem no crescimento e na sobrevivência das células que transportam essas alterações (Croce, 2009). Nomeadamente, um estudo revela que o consumo de tabaco afecta a transcrição de grupos de genes que estão

envolvidos na proliferação e apoptose de leucócitos circulantes. Estes efeitos na transcrição incluem um repertório de alterações associadas ao aumento da incidência de neoplasias (Charles et al, 2008).

De entre os genes envolvidos no desenvolvimento de cancro inclui-se o gene supressor tumoral, p53, que controla o ciclo celular e foi identificado como um alvo susceptível a mutações genéticas. Mutações pontuais do gene p53 foram encontradas na maioria dos diferentes tipos de cancro. Na figura 18 ilustra-se o espectro de mutações deste gene em diferentes tipos de cancro, incluindo no cancro do pulmão em fumadores e não fumadores (Pfeifer et al., 2002; Owing, 2005). Em cancros do pulmão, 40% das mutações do gene p53 correspondem a transversões de G:C para T:A, que se pensa serem marcas putativas, isto é, induzidas especificamente por determinados tipos de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs). Recentemente, a associação entre a frequência de mutações p53 induzidas pelo tabaco e polimorfismos genéticos das enzimas metabolizadoras já mencionadas foram reportadas em muito tipos de cancro (Owing, 2005).



Figura 18- Espectro de mutações do gene p53 em diferentes tipos de cancro, e no cancro do pulmão, em fumadores e em não fumadores.

Adaptado de: Pfeifer et al., 2002.

A figura 19 ilustra o processo carcinogénico não só do ponto de vista da metabolização do xenobiótico, mas também tendo em conta as alterações genéticas concomitantes, resume, por isso, a exposição referente a esta matéria.

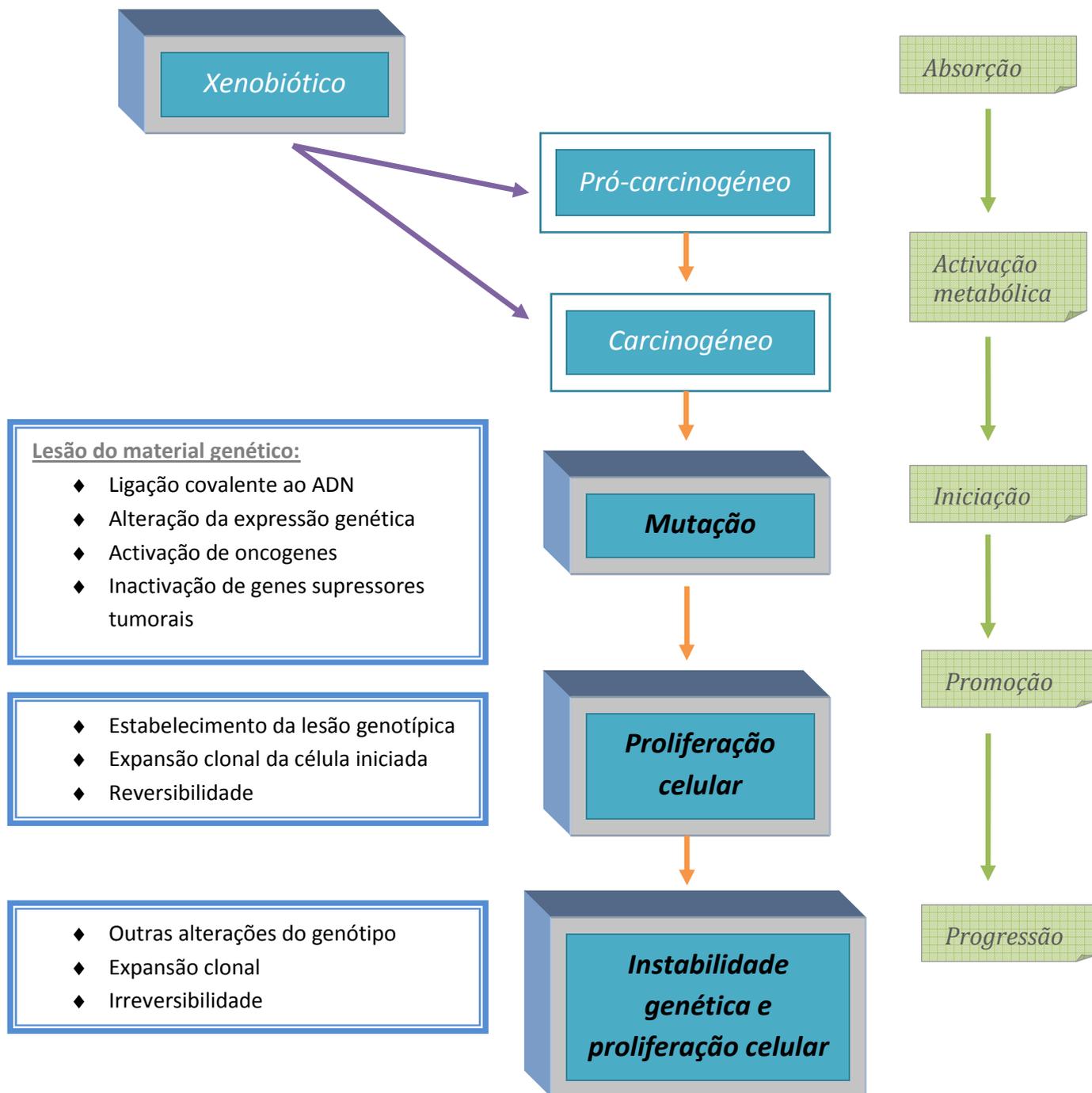


Figura 18- Ilustração do processo carcinogénico.

A função dos genes que codificam as enzimas metabolizadoras de fase I e fase II e dos genes de reparação do ADN pode modificar-se mesmo na ausência de polimorfismos, e isto pode acontecer devido a alterações epigenéticas induzidas por factores ambientais (Taioli, 2008).

A genética clássica não é capaz de explicar a diversidade de fenótipos numa população. Nem explica como gémeos monozigóticos ou animais clonados, apesar das suas sequências idênticas de ADN, podem ter fenótipos diferentes e diferentes susceptibilidades a doenças. O conceito de epigenética, alterações hereditárias na expressão genética que não resultam de alteração na sequência de ADN, oferece uma explicação parcial destes fenómenos (Esteller et al., 2008).

O marcador epigenético melhor conhecido é o ADN metilado. A metilação do ADN ocorre numa complexa rede de cromatina e é influenciada por modificações da estrutura das histonas que estão geralmente alteradas nas células cancerígenas, a figura 19 ilustra este fenómeno (Esteller et al., 2008).

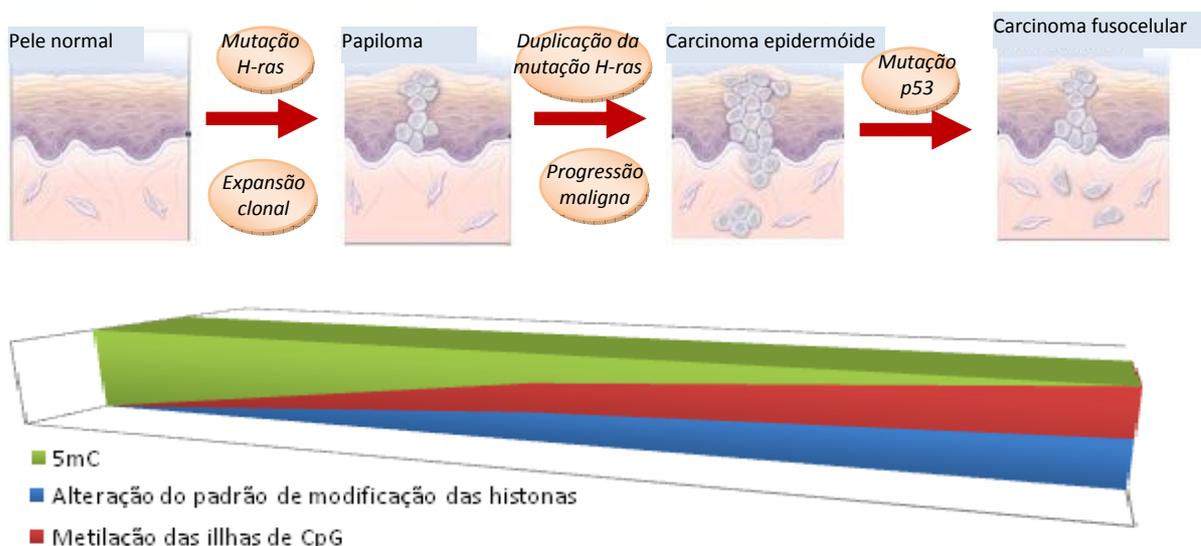


Figura 19- Alterações epigenéticas na progressão tumoral num modelo de carcinogénese na pele.

Em conjunto com as alterações fenotípicas e a acumulação de defeitos genéticos, há uma perda progressiva do conteúdo total de ADN metilado, um aumento da frequência de ilhas CpG hipermetiladas (regiões de ADN que contêm muitos nucleotídeos de citosina e de guanina adjacentes, estas ilhas ocorrem em cerca de 40% dos genes promotores humanos) e aumento da modificação da estrutura das histonas. H-ras designa oncogene Harvey-ras, e 5mC designa 5-metil-citosina. Adaptado de: Esteller et al., 2008.

Juntamente com a metilação dos genes supressores tumorais, foi também demonstrada a hipermetilação de genes metabólicos (CYP1A1 e GSTP1) e de genes de reparação de ADN (HMLH1 E MGMT) em vários tipos de cancro, incluindo o cancro do pulmão. Os fenómenos epigenéticos foram associados à exposição ao fumo do tabaco (Taioli, 2008).

Para avaliar a exposição ao fumo do tabaco e outros carcinogéneos foram desenvolvidas estratégias baseadas na medição de biomarcadores de exposição a carcinogéneos. Nomeadamente a quantificação de carcinogéneos ligados covalentemente ao ADN (“aductos de ADN”). Estes são biomarcadores da dose efectiva de um carcinogéneo e desta forma, biomarcadores do risco de desenvolver cancro (Lodovici e Bibabli, 2009).

Os “aductos de ADN” representam a quantidade de carcinogéneo absorvido pelo organismo e que não é depurado, que se liga às macromoléculas celulares e não sofreu reparação. A sua formação é um passo importante da carcinogénese química (Lodovici e Bibabli, 2009).

Foi demonstrado que os “aductos de ADN” são marcadores úteis de exposição ao fumo do tabaco, fornecendo uma medida integrada do consumo de carcinogéneos, activação metabólica, e ligação com o ADN dos tecidos alvo. A monitorização destes parâmetros em leucócitos ou lavado bronco-alveolar, permite um meio de investigação da exposição ao fumo do tabaco, activo e passivo, em indivíduos saudáveis e em doentes oncológicos (Lodovici e Bibabli, 2009).

Vários estudos epidemiológicos reportaram associações entre os níveis de “aductos de ADN” e os tipos de cancro mais prevalentes relacionados com o tabaco, incluindo o cancro do pulmão, cabeça e pescoço e da bexiga (Lodovici e Bibabli, 2009).

Existe outro tipo de biomarcadores de exposição a carcinogéneos do fumo do tabaco, neste caso são substâncias mensuráveis em tecidos ou fluidos humanos especificamente

relacionados com os carcinogénios do tabaco. Exemplos destes biomarcadores incluem os carcinogénios do fumo do tabaco e os seus metabolitos no ar expirado, sangue ou urina, e ainda proteínas ligadas covalentemente a carcinogénios (Hecht, 2008).

Após o esclarecimento do processo de carcinogénese, importa elucidar os mecanismos através dos quais os componentes cancerígenos do fumo do tabaco provocam as alterações celulares previamente explicitadas. Entre os principais efeitos adversos do fumo do tabaco, encontram-se o stresse oxidativo, peroxidação lipídica, desordens lipometabólicas e efeitos mutagénicos (Scherer, 2005).

Cada inalação de fumo de tabaco contém 1017 moléculas oxidativas. Os oxidantes presentes no fumo do tabaco causam lesão celular através de vários mecanismos, incluindo a depleção de glutathiona e outros antioxidantes, a iniciação de mecanismos cíclicos de oxidação, aumento da lesão de neutrófilos e macrófagos, inactivação de inibidores das proteases tais como o inibidor da $\alpha 1$ -antitripsina, e lesão directa dos lípidos, ácidos nucleicos e proteínas (Donohue, 2006). A figura 20 ilustra estas alterações.

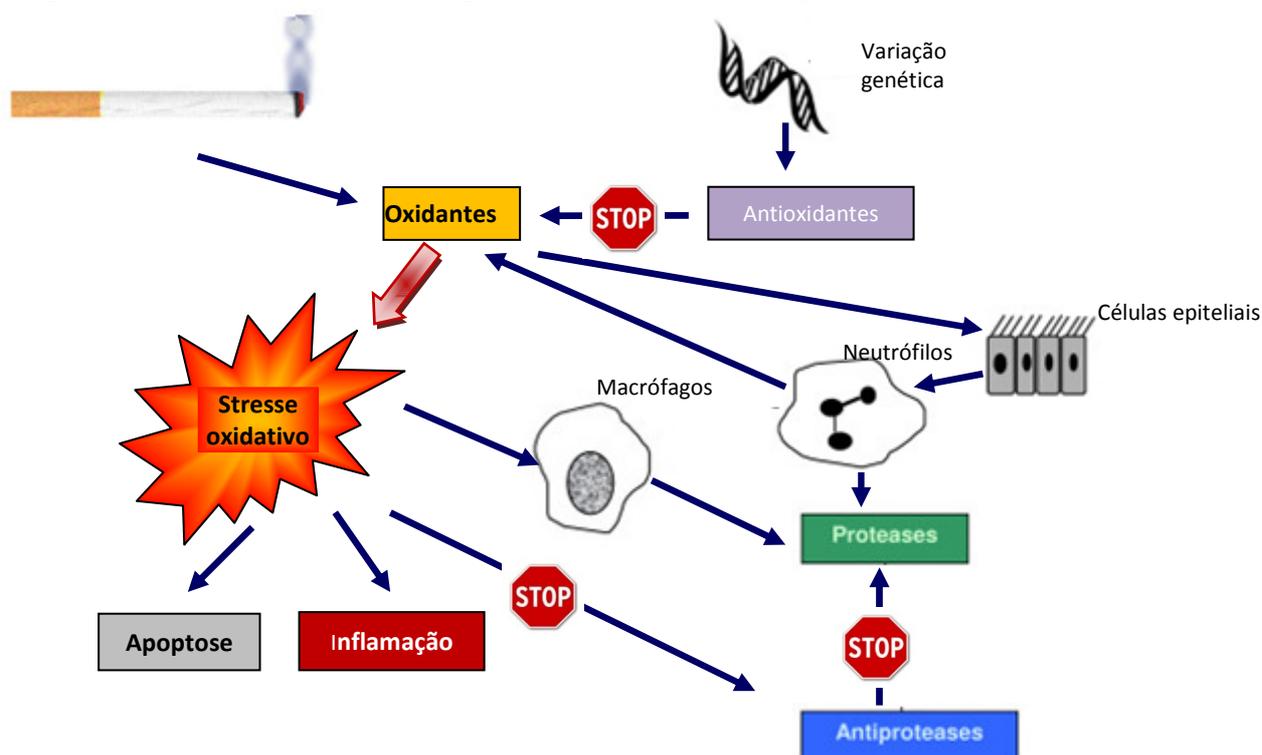


Figura 20- Acção do fumo do tabaco.

À produção de espécies reactivas de oxigénio (ROS) em quantidades que ultrapassam o sistema de defesa antioxidante endógeno dá-se o nome de stresse oxidativo. O stresse oxidativo crónico tem uma forte associação com inúmeros estadios de doenças, incluindo doenças cardiovasculares e cancro (Bloomer, 2007).

Os fumadores estão expostos a quantidades significativas de ROS em ambas as fases do fumo do tabaco. Outros processos de produção de ROS, como a produção de ROS mediada por processos inflamatórios podem exacerbar os danos causados pela exposição directa (Bloomer, 2007).

Pensa-se que o fumo do tabaco causa stresse oxidativo por vários mecanismos, incluindo o dano directo por espécies de radicais livres e a resposta inflamatória induzida pelo fumo do tabaco, causa também peroxidação lipídica das membranas celulares e a lesão oxidativa de outras biomoléculas como o ADN (Puri et al., 2008). A figura 21 mostra a estrutura da membrana celular, os radicais livres vão causa peroxidação na bicamada lipídica desta membrana.

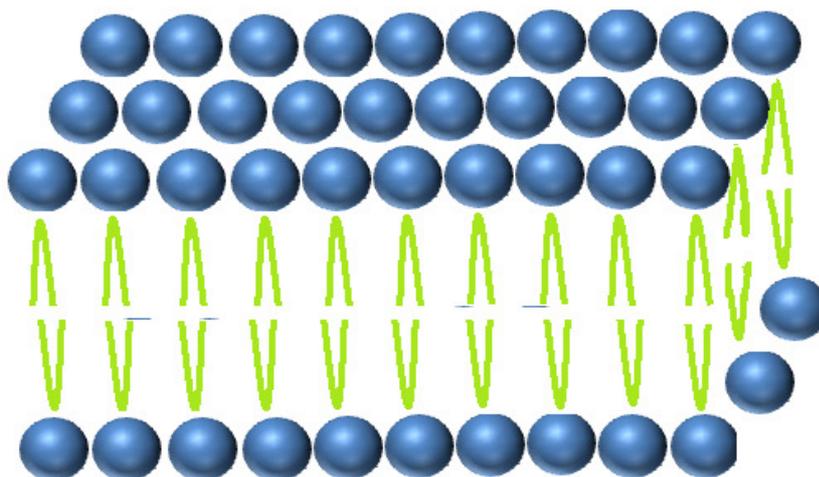


Figura 21- Esquema da bicamada lipídica da membrana celular.

O fumo do tabaco é então uma complexa mistura de numerosos químicos com potencial carcinogénico e tóxico, possuindo também radicais livres, espécies reactivas de oxigénio (ROS), e espécies reactivas de nitrogénio (Valavanidis et al., 2009).

Os radicais livres definem-se como espécies químicas reactivas que têm um único electrão na sua órbita externa. Esta configuração instável gera energia que é libertada através de reacções com moléculas adjacentes, tais como proteínas, lípidos, hidratos de carbono e ácidos nucleicos. A maioria dos radicais livres que lesionam os sistemas biológicos são radicais livres de oxigénio, mais conhecidos por “espécies reactivas de oxigénio” (ROS) (Rahman, 2007).

No fumo do tabaco encontram-se pelo menos seis tipos diferentes de radicais livres, alguns não identificados. Entre os radicais livres do fumo do tabaco identificados encontram-se os radicais semiquinona (QH^{\bullet}), radicais com carbono central ($-C^{\bullet}$), radicais livres de oxigénio (O_2^{\bullet}), radicais livres de nitrogénio (óxido nítrico) (Valavanidis et al., 2009).

A fase gasosa do fumo do tabaco contém uma elevada quantidade de radicais livres. O óxido nítrico é uma espécie de considerável interesse devido ao seu papel fisiológico múltiplo como modulador da pressão arterial e da neurotransmissão, mas também pelo seu efeito tóxico. O óxido nítrico reage rapidamente com o oxigénio para formar peroxinitrito, um químico conhecido pela sua acção altamente tóxica e oxidativa nas biomoléculas. O óxido nítrico foi implicado na carcinogénese e na promoção tumoral (Valavanidis et al., 2009).

As partículas finas e superfinas da fase particulada do fumo do tabaco “tar” são depositadas nos alvéolos pulmonares e entram em contacto com os fluidos pulmonares, onde se dissolvem os componentes hidrossolúveis da “tar”. Embora a “tar” não se ligue ao ADN, o sistema semiquinona reduz oxigénio (O_2) a anião superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que por sua vez é dismutado em peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e é decomposto por metais de transição, tais

como ferro e cobre, para formar o radical hidroxilo (OH^\bullet) extremamente reactivo. (Valavanidis et al., 2009). Esta sequência é demonstrada pelas seguintes reacções químicas:

1. $\text{Q} + \text{QH}_2 \leftrightarrow 2 \text{QH}^\bullet$
2. $\text{QH}^\bullet + \text{O}_2 \rightarrow \text{Q} + \text{O}_2^{\bullet-} + \text{H}^+$
3. $\text{O}_2^{\bullet-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$
4. $\text{QH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Q}$
5. $\text{QH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2^{\bullet-} + \text{QH}^\bullet + \text{H}^+$
6. $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^\bullet + \text{HO}^-$

Estas reacções podem ter lugar dentro do núcleo da célula e o radical hidroxilo pode atacar o ADN, alterando o número de bases nucleares, induzindo quebras da cadeia de ADN, e outras lesões (Valavanidis et al., 2009).

Os oxidantes e radicais livres do fumo do cigarro foram considerados como um potencial mecanismo através do qual o fumo do tabaco pode promover peroxidação lipídica dos lípidos da membrana celular, levando a aterosclerose, disfunção endotelial, eventos clínicos agudos e aumento do risco de doenças cardiovasculares. As ROS da fase gasosa do fumo do tabaco promovem a destruição de antioxidantes endógenos (vitaminas e antioxidantes enzimáticos) reduzindo o papel vital das defesas antioxidantes das células (Valavanidis et al., 2009).

Vários estudos indicam que os fumadores possuem um nível elevado de biomarcadores de stresse oxidativo quando comparados com não fumadores (Bloomer, 2007). Nomeadamente, a exposição de proteínas a ROS resulta na modificação de resíduos de aminoácidos, que alteram a estrutura e a função das proteínas. Os grupos carbonil das proteínas são usados como um biomarcador de oxidação proteica e por conseguinte de stresse oxidativo devido à relativa estabilidade das proteínas carboniladas e à elevada concentração

de proteínas do sangue. Encontraram-se elevados níveis de grupos carbonil nas proteínas séricas de fumadores, quando em comparação com não fumadores (Yeh et al., 2008).

O tabagismo está associado ao aumento do stresse oxidativo e a inflamação subclínica, servindo, por isso de modelo para o estudo de estados de oxidação-redução e inflamatórios (Agarwal, 2005).

A grande maioria dos estudos sobre a acção carcinogénica do fumo do tabaco são realizados na fase particulada. Esta apresenta características mutagénicas e citotóxicas *in vitro*, proinflamatórias, e promove a formação tumoral em modelos animais. A fase gasosa do fumo do tabaco contém também constituintes citotóxicos, incluindo aldeídos reactivos e carbonilos capazes de lesar células e induzir inflamação pulmonar. Várias evidências existem de que a inflamação pulmonar induzida pelo fumo do tabaco pode desempenhar um papel importante no aumento do risco de cancro do pulmão em fumadores (Smith et al, 2006).

O fumo do tabaco induz resposta inflamatória nos pulmões através do estímulo à libertação de citocinas pró-inflamatórias. As remodelações da cromatina devidas à acetilação e desacetilação de histonas desempenham um papel importante na regulação da transcrição de genes pró-inflamatórios (Yang et al., 2006).

A glutathione é o antioxidante major que actua a nível do pulmão, intra e extracelularmente. O fumo do tabaco altera também a homeostase da glutathione, perturbando o seu efeito antioxidante, através da diminuição dos níveis desta defesa antioxidante nas células (Kode et al., 2006).

O fumo do cigarro induz a libertação de interleucina-8, o que está associado à activação de NF-kB (factor de necrose k B) e à redução dos níveis e actividade da enzima histona-desacetilase em macrófagos (Yang et al., 2006).

A interleucina-8 é uma citocina multifuncional que tem propriedades quimioattractivas e activadoras de neutrófilos (Yang et al., 2006).

A inflamação pulmonar causada pelo fumo do tabaco leva a um aumento da susceptibilidade a infecções (Gualano et al., 2008. McMaster et al., 2008). O fumo do tabaco induz um padrão notavelmente distinto de activação de macrófagos alveolares (Woodruff et al., 2005).

Por outro lado, o tabagismo crónico é caracterizado por alterações imunossupressoras das vias aéreas, o que propicia a uma colonização crónica por bactérias, o que por sua vez pode contribuir para a doença pulmonar obstrutiva crónica e como mencionado, contribui para um aumento do stresse oxidativo (Laan et al., 2004).

Existem estudos que indicam que estas propriedades imunossupressoras do fumo do tabaco se devem à diminuição da mobilização de neutrófilos em resposta a bactérias patogénicas. A supressão de células T, assim como a função macrofágica e a diminuição da função mucociliar pelo fumo do tabaco, foram também sugeridas como sendo responsáveis, pelo menos em parte, pelo enfraquecimento da resposta imunitária (Laan et al., 2004).

Os efeitos do fumo do tabaco no enfraquecimento da vigilância imune de tumores, devem-se, segundo estudos desenvolvidos, à actividade enfraquecida das células NK (“natural killer”, citotóxicas). Estes defeitos na vigilância imunológica das células NK induzidos pelo fumo do tabaco levaram a um aumento do número de metástases pulmonares em ratos, como se demonstra na figura 22. Este efeito do fumo do tabaco nas células NK é reversível, e atingido pela cessação da exposição tabágica (Lu et al., 2007).

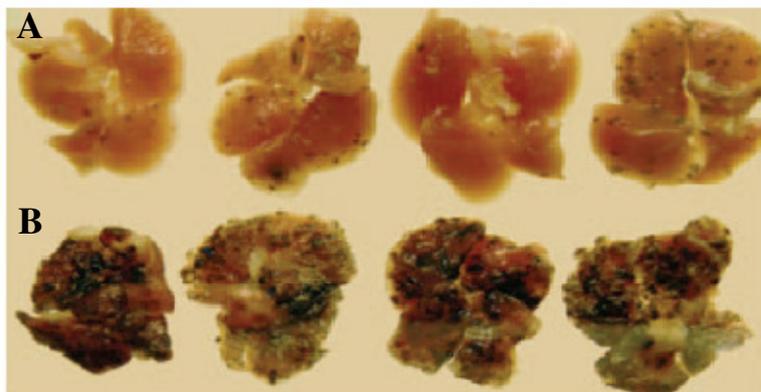


Figura 22- Diferença entre o número de metástases pulmonares em ratos. No grupo A não houve exposição ao fumo do tabaco, enquanto que no grupo B existiu essa exposição. Adaptado de Lu et al., 2007.

Paralelamente a estas alterações, o fumo do tabaco desregula componentes específicos da cascata de adesão celular. São as interacções sequenciais entre as moléculas de adesão e os seus ligandos que regulam a circulação de linfócitos e o recrutamento de leucócitos ao foco inflamatório, e esta alteração pode ser um factor comum em várias doenças induzidas pelo tabaco (Scott e Palmer, 2002).

Até agora foram descritos os efeitos da exposição crónica ao fumo do tabaco, mas para melhor perceber estes efeitos crónicos, é importante estudar a resposta inicial (aguda) ao fumo do tabaco, uma vez que os efeitos agudos do fumo do tabaco repetidamente podem acumular-se e em última instância provocar lesões irreversíveis (Van der Vaart et al., 2005).

A exposição aguda ao fumo do tabaco é um modelo relativamente fácil e sensível para a investigação de efeitos específicos de fumo do tabaco no stresse oxidativo e na inflamação (Van der Vaart et al., 2004).

A exposição aguda ao fumo do tabaco pode resultar em lesão tecidular, como é sugerido pelo aumento dos produtos da peroxidação lipídica e dos produtos de degradação das proteínas da matriz extracelular. A exposição aguda ao fumo do tabaco é quimiotática para

neutrófilos e macrófagos e activadora destas células, contudo tem um efeito supressivo no número de eosinófilos e de várias citocinas inflamatórias, possivelmente devido ao efeito anti-inflamatório do monóxido de carbono. A figura 23 resume estes efeitos (Van der Vaart et al., 2004).

Assim, a exposição aguda ao fumo do tabaco torna-se um modelo útil como suplemento de outros métodos no estudo dos efeitos do fumo do tabaco (Van der Vaart et al., 2004).

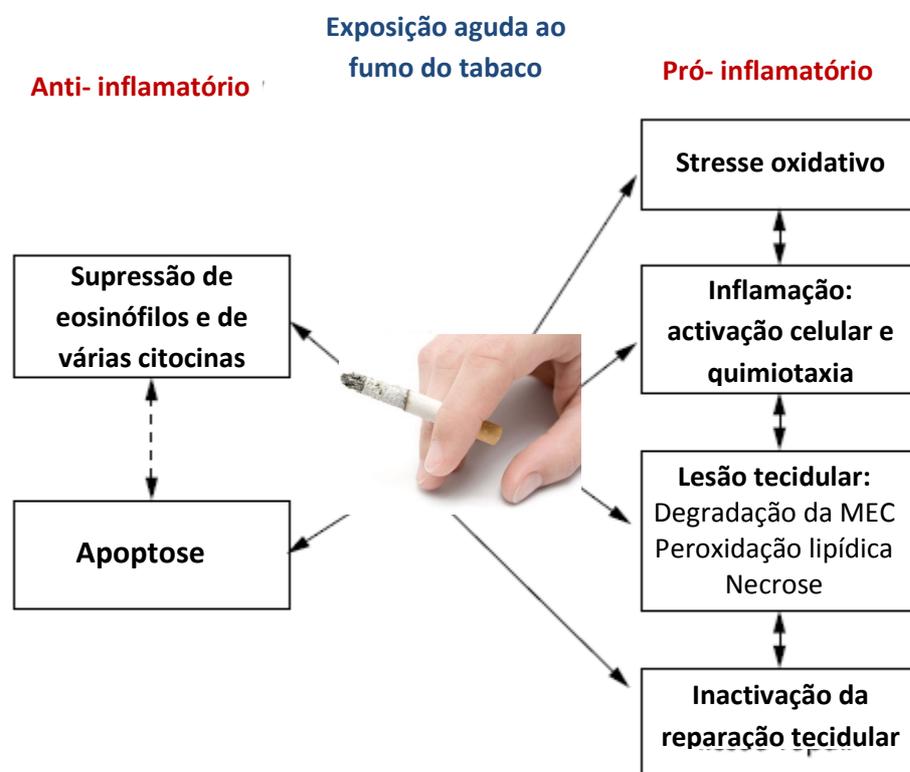


Figura 23- Efeitos agudos do fumo do tabaco. (MEC- matriz extracelular). Adaptado de: Van der Vaart et al., 2004.

Podemos então dizer que a carcinogénese provocada pelo fumo do tabaco é um processo multifactorial que depende da exposição ao fumo do tabaco, mas também da predisposição genética e do estado geral de cada indivíduo.

O fumo do tabaco além de substâncias cancerígenas contém também radicais livres que contribuem para o processo carcinogénico. São múltiplos os mecanismos através dos quais o fumo do tabaco pode levar a neoplasia, entre estes contam-se o stresse oxidativo, a peroxidação lipídica e a inflamação como os mais influentes. Estes mecanismos culminam em lesões de ADN, mutações, instabilidade genética. A célula é dotada de variados mecanismos de defesa contra estas agressões, entre os quais, a excisão de bases nucleotídicas, a excisão de nucleótidos e a apoptose (morte celular programada).

Conclusões

O cancro é uma importante causa de morte em todo o mundo. Esta doença era responsável em 2004 por 7,4 milhões de mortes no mundo (cerca de 13% de todas as mortes). Os tipos de cancro com maior mortalidade a nível mundial são o do pulmão, do estômago, colo rectal, do fígado e da mama, sendo que cada um destes causa 1300000, 803000, 639000, 610000, 519000 mortes por ano, respectivamente.

Tabagismo significa dependência de tabaco. Consiste no consumo abusivo de tabaco, incluindo cigarros, cigarrilhas, charutos ou tabaco de cachimbo. Não depende apenas da quantidade fumada, mas essencialmente da necessidade de fumar, sendo altamente prevalente em todo o mundo. Segundo as estimativas feitas para 2005, 22% dos adultos de todo o mundo fumariam tabaco, dos quais cerca de 80% seriam homens e 20% mulheres.

O consumo de tabaco é a primeira causa evitável de cancro, e um factor de risco major para desenvolvimento de cancro do pulmão, sendo este um dos efeitos mais conhecidos do tabaco na saúde humana (WHO, 2009).

O tabaco aumenta o risco de cancro em muitos outros locais do organismo para além dos pulmões, de acordo com o trajecto do fumo do tabaco e dos seus componentes no organismo

humano. Estes locais incluem a cabeça e o pescoço (incluindo cancro do esófago, laringe, língua, glândulas salivares, lábio, boca e faringe), bexiga e rins, colo do útero, mama, pâncreas, cólon, estômago, cancro cerebral no adulto e leucemia mielóide aguda.

Apesar do risco de desenvolvimento de alguns tipos de cancro se encontrar relacionado com hábitos tabágicos, apenas uma percentagem dos indivíduos expostos desenvolvem a doença, sugerindo também a participação de outros factores relacionados com o estilo de vida, ambientais, e genéticos nomeadamente diversos polimorfismos genéticos. Esta interacção gene-ambiente proporciona a possibilidade de definir perfis de risco individual, que seriam importantes para a identificação de sub-grupos com maior risco para a doença

Estão identificados aproximadamente 4800 compostos no fumo do cigarro Sendo que a Agência Internacional para Pesquisa sobre Cancro (IARC) classificou, em 1985, a o fumo do tabaco como carcinogénico do grupo 1, assim como adicionalmente, classificou também como carcinogénicos um número de constituintes químicos do fumo do tabaco, isoladamente.

A carcinogénese é um processo com várias etapas, que tem na sua base a lesão genética e epigenética induzida por carcinogénicos em células alvo, que adquirem uma maior capacidade de crescimento e multiplicação e resistência à apoptose.

As alterações genéticas das células cancerígenas incluem mutações, marcadores epigenéticos, lesões cromossómicas e encurtamento de telómeros. Como os agentes externos que neste caso correspondem os carcinogénicos do fumo do tabaco, e as funções celulares normais, como a mitose, sujeitam o genoma a frequentes e diversas agressões, a célula humana desenvolveu uma bateria de mecanismos de defesa que (a) participam no sentido de minimizar a lesão (incluindo a inibição de reacções oxidativas por ligação de radicais livres e a depuração de potenciais mutagénicos), (b) reparam as lesões ou (c) removem as células

lesionadas por apoptose (morte celular programada). Quando estas defesas falham e o tumor se estabelece, continuam a acumular-se lesões genéticas e alterações da expressão dos genes, e o tumor continua a crescer e metastizar.

O fumo do tabaco além de substâncias cancerígenas contém também radicais livres que contribuem para o processo carcinogénico. São múltiplos os mecanismos através dos quais o fumo do tabaco pode levar a neoplasia, entre estes contam-se o stresse oxidativo, a peroxidação lipídica e a inflamação como os mais influentes. Estes mecanismos culminam em lesões de ADN, mutações, instabilidade genética que levam a aumento da proliferação celular e daí resulta a neoplasia.

Este trabalho teve como objectivo explorar a acção do tabaco no desenvolvimento de neoplasias. Para além de se elucidar todo o processo de carcinogénese pelo fumo do tabaco demonstrou-se a elevada prevalência de cancro e também de tabagismo a nível mundial e estabeleceu-se a relação entre estas duas realidades. Após toda esta pesquisa e da forte associação entre tabaco e os diferentes tipos cancro mencionados pode concluir-se a necessidade de elaborar estratégias que promovam a cessação tabágica e que demovam as pessoas de começar a fumar. Esta prevenção poderá ser ainda mais relevante em indivíduos cujo património genético, se encontre relacionado com um aumento da susceptibilidade para desenvolver cancro nos indivíduos fumadores. São exemplos indivíduos com determinados polimorfismos genéticos ao nível de GST. Existe evidência, apesar de limitada, de que o resultado do teste genético para identificação de possíveis alterações susceptíveis de aumentar o risco de cancro, pode possivelmente alterar positivamente o comportamento de fumadores, no contexto de cessação tabágica (aumento do número de tentativas e possivelmente aumento da taxa de sucesso da cessação tabágica), ou diminuindo a prevalência do tabagismo. Concomitantemente, e tendo em conta que acabar com o tabagismo é uma tarefa árdua, se não

impossível, podem-se enveredar alterações na composição dos próprios cigarros de modo a diminuir o número e concentração de compostos carcinogéneos que os compõem, diminuindo, desta forma as suas acções nefastas no organismo humano nomeadamente neoplasias.

Referências

1. Agarwal Rajiv (2005) Smoking, oxidative stress and inflammation: Impact on resting energy expenditure in diabetic nephropathy. *BMC Nephrology*, 6:13.
2. Anand Preetha et al. (2008) Cancer is a preventable Disease that requires Major lifestyle changes. *Pharmaceutical research*. 25 (9).
3. Alberg Anthony et al. U.S. Department of Health and Human Services. (2004) Cancer In: Surgeon General's Report- The Health Consequences of Smoking, pp 25-26.
4. Antunes Emília (2006) Consumo de Tabaco. Efeitos na Saúde. *Rev Port. Clin. Geral* 22: 225-244.
5. Baker, R.R. (1999) Smoke chemistry. In: Davis, D.L., Nielsen, M.T. (Eds.), *Tobacco Production, Chemistry and Technology*. Blackwell Science, Oxford, pp. 398-439.
6. Boccia Stefania, Sayed-Tabatabaei Fakhredin A, Persiani Roberto, Gianfagna Francesco, Rausei Stefano, Arzani Dario, Greca Antonio La, D'Ugo Domenico, La Torre Giuseppe, van Duijn Cornelia M e Ricciardi Gualtiero (2007) Polymorphisms in metabolic genes, their combination and interaction with tobacco smoke and alcohol consumption and risk of gastric cancer: a case-control study in an Italian population. *BMC Cancer*, 7:206.
7. Bloomer Richard J (2007) Decreased blood antioxidant capacity and increased lipid peroxidation in young cigarette smokers compared to nonsmokers: Impact of dietary intake. *Nutrition Journal*, 6:39.
8. Brockmüller J, Cascorbi I, Kerb R, Roots I (1996) Combined analysis of inherited polymorphisms in arylamine N-acetyltransferase 2, glutathione S-transferases M1 and T1, microsomal epoxide hydrolase, and cytochrome P450 enzymes as modulators of bladder cancer risk. *Cancer Res* 56:3915-25.
9. Charles Peter C, Alder Brian D, Hilliard Eleanor G, Schisler Jonathan C, Lineberger Robert E, Parker Joel S, Mapara Sabeen, Wu Samuel S, Portbury Andrea, Patterson Cam e Stouffer George A (2008) Tobacco use induces anti-apoptotic, proliferative patterns of gene expression in circulating leukocytes of Caucasian males. *BMC Medical Genomics*, 1:38.

10. Colin D. Maters et al (2001) Cancer incidence, mortality and survival by site for 14 regions of the world. Global Programme on Evidence for Health Policy Discussion Paper nr.13, World Health Organization.
11. Croce Carlo M., D. M. (2009) MOLECULAR ORIGINS OF CANCER- Oncogenes and Cancer. *N Engl J Med* 358:502-11.
12. Scott DA, Palmer RM (2002) The influence of tobacco smoking on adhesion molecule profiles. *Tobacco Induced Diseases*. 1(1): 7-25.
13. Debnath A. K., Shusterman A. J., de Compadre R. R. L. and Hansch C. (1994) Importance of the hydrophobic interaction in the mutagenicity of organic compounds. *Mutation Research* 305: 63-72.
14. Direcção Geral de Saúde- Divisão de Epidemiologia- Lisboa (2008) Risco de Morrer em Portugal 2005.
15. Direcção Geral de Saúde (2008) Elementos Estatísticos- Informação Geral- Saúde/ 2006.
16. Donohue J F (2006) Ageing, smoking and oxidative stress. *Thorax* 61:461-462.
17. Doolittle D. J., Lee C. K., Ivett J. L., Mirsalis J. C., Riccio E., Rudd C. J., Burger G. T. and Hayes A. W. (1990) Comparative studies on the genotoxic activity of mainstream smoke condensate from cigarettes which burn or only heat tobacco. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 15: 93-105.
18. Dube, M.F., Green, C.R. (1982) Methods of collection of smoke for analytical purposes. *Recent Advances in Tobacco Science* 8: 42-102.
19. Esteller Manel, D.M., D.Ph. (2008) Molecular Origins of Cancer- Epigenetics in Cancer. *N Engl J Med* 358:1148-59.
20. Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson, Loscalzo (2008) Neoplasms of the lung. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine* (17th ed), pp551-552. Mc Graw Hill.
21. Gianfagna Francesco, Feo Emma De, van Duijn Cornelia M., Ricciardi Gualtiero e Boccia Stefania (2008) A Systematic Review of Meta-Analyses on Gene Polymorphisms and Gastric Cancer Risk. *Current Genomics* 9: 361-374.
22. Green, C.R., Rodgman, A. (1996) The Tobacco Chemists' Research Conference: a half century forum for advances in analytical methodology of tobacco and its products. *Recent Advances in Tobacco Science* 22, 131-304.
23. Gualano Rosa C, Hansen Michelle J, Vlahos Ross, Jones Jessica E, Park-Jones Ruth A, Deliyannis Georgia, Turner Stephen J, Duca Karen A e Anderson Gary P (2008) Cigarette smoke worsens lung inflammation and impairs resolution of influenza infection in mice. *Respiratory Research*, 9:53.

24. Guerin, M.R., Jenkins, R.A., Tomkins, B.A. (1992) Mainstream and sidestream cigarette smoke. In: Eisenberg, M. (Ed.), *The Chemistry of Environmental Tobacco Smoke: Composition and Measurement*. Lewis Publishers, Chelsea, MI.
25. Hansch C. and Leo A. (1995a) QSAR in metabolism. In *Exploring QSAR, Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*, ed. S. R. Heller, pp. 299-343. American Chemical Society, Washington, DC.
26. Hecht Stephen S., D. Ph. (2008) Progress and Challenges in Selected Areas of Tobacco Carcinogenesis. *Chem Res Toxicol.* 21(1): 160-171.
27. Hoffmann Dietrich, Hoffmann Ilse, e El-Bayoumy Karam (2001) The Less Harmful Cigarette: A Controversial Issue. A Tribute to Ernst L. Wynder. *Chem. Res. Toxicol.* 14 (7).
28. Hoffmann D., Wynder E. L., Rivenson A., La Voie E. J. and Hecht S. S. (1983) Skin bioassays in tobacco carcinogenesis. *Progress in Experimental Tumor Research* 26: 43-67.
29. Hoffmann G. R. (1996) Genetic toxicology. In *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, ed. C. D. Klaassen, M. O. Amdur, and J. Doull, 5th edn, pp. 269-300. McGraw-Hill, New York.
30. Jemal A. et al (2008) Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 58: 71-96.
31. Jurling Bernhard (2001) Therapeutic potential of dietary phase 2 enzyme inducers in ameliorating diseases that have an underlying inflammatory component. *Can. J. Physiol. Pharmacol* 79: 266–282.
32. Kamal Chaouachi (2009) Hookah (Shisha, Narghile) Smoking and Environmental Tobacco Smoke (ETS). A Critical Review of the Relevant Literature and the Public Health Consequences. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 6: 798-843.
33. Kode Aruna, Yang Se-Ran e Rahman Irfan (2006) Differential effects of cigarette smoke on oxidative stress and proinflammatory cytokine release in primary human airway epithelial cells and in a variety of transformed alveolar epithelial cells. *Respiratory Research*, 7:132.
34. Laan Martti, Bozinovski Steven, e Anderson Gary P. (2004) Cigarette Smoke Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Production of Inflammatory Cytokines by Suppressing the Activation of Activator Protein-1 in Bronchial Epithelial Cells. *The Journal of Immunology*, 173: 4164–4170.
35. Landi MT, Dracheva T, Rotunno M, Figueroa JD, Liu H, et al. (2008) Gene Expression Signature of Cigarette Smoking and Its Role in Lung Adenocarcinoma Development and Survival. *PLoS ONE* 3(2): e1651.
36. Lee C. K., Doolittle D. J., Burger G. T. and Hayes A. W. (1990) Comparative genotoxicity testing of mainstream whole smoke from cigarettes which burn or heat tobacco. *Mutation Research* 242: 37-45.

37. Lewis A. Chodosh, M. D., PH. D (2002) Clinical Implications of basic research- The reciprocal dance between cancer and development. *N. Engl. J. Med.* 347(2).
38. Liang PS, Chen TY, Giovannucci F. (2009) Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cancer.* 124(10):2406-15.
39. Lodovici Maura e Bigagli Elisabetta (2009) Biomarkers of Induced Active and Passive Smoking Damage. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 6: 874-888.
40. Loeb Keith R. e Loeb Lawrence A. (2000) Significance of multiple mutations in cancer. *Carcinogenesis.* 21(3): 379-385
41. Lu Ling-Min, Zavitz Caleb C. J., Chen Biao, Kianpour Sussan, Wan Yonghong, e Sta Martin R. (2007) Cigarette Smoke Impairs NK Cell-Dependent Tumor Immune Surveillance. *The Journal of Immunology*, 178: 936-943.
42. Manuguerra et al. (2006) XRCC3 and XPD/ERCC2 single nucleotide polymorphisms and the risk of cancer: a HuGE review. *Am. J. Epidemiol.*, 164: 297-302.
43. Manuila L., Manuila A., Lewalle P., Nicoulin M. (2004) *Dicionário Médico.* Climepsi Editores.
44. Mathers (2007) Overview of genes, diet and cancer. *Genes Nutr* 2:67-70.
45. McCarty Kathleen M., Santella Regina M., Steck Susan E., Cleveland Rebecca J., Ahn Jiyoun, Ambrosone Christine B, North Kari, K. Sagiv Sharon, Sybil M. Eng, L. Susan Teitelbaum Alfred I. Neugut, e Gammon Marilie D. (2009) PAH-DNA Adducts, Cigarette Smoking, GST Polymorphisms, and Breast Cancer Risk. *Environmental Health Perspectives.* 117 (4).
46. McGrath Monica, Michaud Dominique e De Vivo Immaculata (2006). Polymorphisms in GSTT1, GSTM1, NAT1 and NAT2 genes and bladder cancer risk in men and women. *BMC Cancer*, 6:239.
47. McMaster SK, MJ Paul-Clark, M Walters, M Fleet, J Anandarajah, S Sriskandan e JA Mitchell1 (2008) Cigarette smoke inhibits macrophage sensing of Gram-negative bacteria and lipopolysaccharide: relative roles of nicotine and oxidant stress. *British Journal of Pharmacology* 153, 536-543.
48. Nakachi K, Imai K, Hayashi S, Kawajuri K (1993) Polymorphisms of CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Res.* 53:2994-9.
49. Okada T, Kawashima K, Fukushi S, Minakuchi T, Nishimura S. (1994) Association between a cytochrome P450 CYP1A1 genotype and incidence of lung cancer. *Pharmacogenetics* 4:333-40.
50. Osswald Walter e Guimarães Serafim (2001) *Farmacologia Geral.* In: *Terapêutica Medicamentosa e suas bases Farmacológicas.* pp 13-61. Porto Editora.

51. Owing J. H. (2005) Genetic Polymorphisms of Tobacco- Related Metabolizing Enzymes, P53 Expression and Cancer Risks. In: Smoking and health: new research. pp 61-95. Nova Science Publishers.
52. Parkinson A. (1996) Biotransformation of xenobiotics. In Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, ed. C. D. Klaassen, M. O. Amdur and J. Doull, 5th ed, pp. 113-186. McGraw-Hill, New York.
53. Pfeifer Gerd P, Denissenko Mikhail F, Olivier Magali, Tretyakova Natalia, Hecht Stephen S e Hainaut Pierre (2002) Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene* 21: 7435 - 7451.
54. Pillsbury, H.C., Bright, C.C., O'Connor, K.J., Irish, F.W. (1969) Tar and nicotine in cigarette smoke. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 52: 458–462.
55. Puri Basant K, Treasaden Ian H, Cocchi Massimo, Tsaluchidu Sofia, Tonello Lucio e Ross Brian M (2008) A comparison of oxidative stress in smokers and non-smokers: an in vivo human quantitative study of n-3 lipid peroxidation. *BMC Psychiatry*. 8 (1): S4.
56. Rahman Khalid (2007) Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*. 2(2): 219–236.
57. Rozman K. K. and Klaassen C. D. (1996) Absorption, distribution and excretion of toxicants. In Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, ed. C. D. Klaassen, pp. 91-112. McGraw-Hill, New York.
58. Saha SP, Bhalla DK, Whayne Jr TF, Gairola CG (2007) Cigarette smoke and adverse health effects: An overview of research trends and future needs. *Int J Angiol* 16(3):77-83.
59. Scherer G. (2005) Biomonitoring of inhaled complex mixtures--ambient air, diesel exhaust and cigarette smoke. *Exp Toxicol Pathol*. 57 Suppl 1:75-110.
60. Shihadeh Alan, Saleh Rawad (2005) Polycyclic aromatic hydrocarbons, carbon monoxide, ‘tar’, and nicotine in the mainstream smoke aerosol of the narghile water pipe. *Food and Chemical Toxicology* 43:655–661.
61. Siraj Abdul K, Ibrahim Muna, Al-Rasheed Maha, Abubaker Jehad, Bu Rong, Siddiqui Shakaib U, Al-Dayel Fouad, Al-Sanea Osama, Al-Nuaim Abdulrahman, Uddin Shahab e Al-Kuraya Khawla (2008) Polymorphisms of selected Xenobiotic Genes contribute to the development of Papillary Thyroid Cancer susceptibility in Middle Eastern population. *BMC Medical Genetics*, 9:61.
62. Sivoňová Monika, Waczulíková Iveta, Dobrota Dušan, Matáková Tatiana, Hatok Jozef, Račay Peter e Kliment Ján (2009) Polymorphisms of glutathione-S-transferase M1, T1, P1 and the risk of prostate cancer: a case-control study. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 28:32.

63. Smith C. J. e Hansch C. (2000) The Relative Toxicity of Compounds in Mainstream Cigarette Smoke Condensate. *Food and Chemical Toxicology* 38:637-646.
64. Smith CJ, Fischer TH (2001) Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 158(2):257-67.
65. Smith, Carr J., Perfetti, Thomas A. e King Judy A (2006) Perspectives on Pulmonary Inflammation and Lung Cancer Risk in Cigarette Smokers. *Inhalation Toxicology*, 18(9): 667 — 677.
66. Smith C.J., T.A. Perfettia, R. Garg, C. Hansch (2003) IARC carcinogens reported in cigarette mainstream smoke and their calculated log P values. *Food and Chemical Toxicology* 41:807–817.
67. Taioli Emanuela (2008) Gene–environment interaction in tobacco-related cancers. *Carcinogenesis*. 29 (8):1467–1474.
68. Tan Duanjun, S.Goerlitz David, G.Dumitrescu Ramona, Han Dingfen, Seillier-Moiseiwitsch Francxoise, M.Spernak Stephanie, Orden Roy Anthony, Chen Jinguo, Goldman Radoslav e G.Shields Peter (2008) Associations between cigarette smoking and mitochondrial DNA abnormalities in buccal cells. *Carcinogenesis*. 29(6):11701177.
69. Tayar N. E., Tsai R. S., Testa B., Carrupt P. A., Hansch C. and Leo A. (1991) Percutaneous penetration of drugs: A quantitative structure-permeability relationship study. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 80: 744-749.
70. Valavanidis Athanasios, Vlachogianni Thomais e Fiotakis Konstantinos (2009) Tobacco Smoke: Involvement of Reactive Oxygen Species and Stable Free Radicals in Mechanisms of Oxidative Damage, Carcinogenesis and Synergistic Effects with Other Respirable Particles. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 6: 445-462.
71. Van der Vaart H., D S Postma, W Timens, N H T Ten Hacken (2004) Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax* 59:713–721.
72. Van der Vaart Hester, S Postma Dirkje, Timens Wim, Hylkema Machteld N, Willemsse Brigitte WM, Boezen H. Marike, Vonk Judith M, Reus Dorothea M de, Kauffman Henk F e Hacken Nick HT ten (2005) Acute effects of cigarette smoking on inflammation in healthy intermittent smokers. *Respiratory Research* 6:22.
73. Wideroff Louise, D. Ph., Vaughan Thomas L., M.D., Farin Federico M., M.D., Gammon Marilie D., Ph.D., Risch Harvey, M.D.,PhD, Stanford Janet L., Ph.D., e Wong-Ho Chow, Ph. (2007) GST, NAT1, CYP1A1 polymorphisms and risk of esophageal and gastric adenocarcinomas. *Cancer Detect Prev.* 31(3): 233–236.
74. Wynder, E.L., Hoffmann, D. (1967) Tobacco and Tobacco Smoke- Studies in Experimental Carcinogenesis. Academic Press, NewYork.
75. Woodruff Prescott G., Koth Laura L., Yang Yee Hwa, Rodriguez Madeleine W., Favoreto Silvio, Dolganov Gregory M, Paquet Agnes C., e Erle David J. (2005) A

Distinctive Alveolar Macrophage Activation State Induced by Cigarette Smoking. *Am J Respir Crit Care Med.* 172:1383–1392.

76. Cancer. World Health Organization: 2009. Disponível em: <http://www.who.int/tobacco/research/cancer/en/print.html>. Acesso em: Maio de 2009.
77. Global Burden of cancer. World Health Organization: Fact sheet nr 297, 2009. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>. Acesso em Maio de 2009.
78. The global burden of disease: 2004 update. World Health Organization: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2008. Disponível em: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/en/ Acesso em Maio de 2009
79. The Top Ten Causes of Death. World Health Organization: Fact sheet No 310, 2008. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>. Acesso em: Maio de 2009.
80. WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, the MPOWER package. Geneva. World Health Organization: 2008. Disponível em: www.who.int/entity/tobacco/mpower/mpower_report_full_2008.pdf. Acesso em: Maio de 2009.
81. World Health Organization (2008) World Health Statistics. WHO Library Cataloguing- in Publication Data
82. Yang, Se-Ran, Asiya S. Chida, Mark R. Bauter, Nusrat Shafiq, Kathryn Seweryniak, Sanjay B. Maggirwar, Iain Kilty, e Irfan Rahman (2006) Cigarette smoke induces proinflammatory cytokine release by activation of NF- κ B and posttranslational modifications of histone deacetylase in macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 291: L46–L57.
83. Yeh Chih-Ching, Barr R. Graham, A. Powell Charles, Mesia-Vela Sonia, Wange Yuanjia, Hamade Nada K., Austin John H.M., e Santella Regina M. (2008) No effect of cigarette smoking dose on oxidized plasma proteins. *Environ Res.* 106(2): 219–225.
84. Ye Z, Song H, Higgins JPT, Pharoah P, Danesh J (2006) Five glutathione S-transferase gene variants in 23,452 cases of lung cancer and 30,397 controls: Metaanalysis of 130 studies. *PLoS Med* 3(4): e91.
85. Young Robert P., Hopkins Raewyn J., Hay Bryan A., Epton Michael J., Mills Graham D., N. Peter, Black, Gardner Heather D., Sullivan Richard, Gamble Gregory D. (2009) Lung Cancer Susceptibility Model Based on Age, Family History and Genetic Variants. *PLoS ONE.* 4 (4): e5302.