



INFLUÊNCIA DO HÁBITO DE FUMAR SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DOS HORMÔNIOS SEXUAIS MASCULINOS

**Nome do autor: Grazielle Halmenschlager
Nome do orientador: Prof. Dr. Ernani Luis Rhoden**

**Dissertação de Mestrado
UFCSPA**

2009

Patogênese e Fisiopatologia

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Graziele Halmenschlager

Influência do hábito de fumar sobre os níveis séricos dos hormônios sexuais masculinos

Dissertação de Mestrado em
Ciências da Saúde para
obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde
Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto
Alegre
Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde
Ênfase: Patogênese e
Fisiopatologia.

Orientador: Prof.Dr. Ernani Luis Rhoden

Porto Alegre
2009

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu filho, Thiago, luz e amor da minha vida, eternamente.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, e acima de tudo, gostaria de agradecer aos meus pais, **Jorge Halmenschlager e Marlise T. Halmenschlager**, pelo imenso e sincero apoio dado em todos os momentos da minha vida. Acredito que sem a fundamental e importante ajuda deles este trabalho não teria sido concluído. Amo vocês do fundo do meu coração e: OBRIGADA. Agradeço também à **Viviane**, minha irmã, que sempre me ajudou quando precisei escrever o trabalho. Obrigada Vivi, te amo.

Em segundo lugar, mas não menos importante, gostaria de agradecer ao meu excelente e inigualável orientador, **Prof. Dr. Ernani Luis Rhoden**, pelo apoio que recebi em todos os momentos, pela confiança dada, pelos conhecimentos passados, pela incansável orientação, pela amizade, pela cobrança (que só me fez crescer tanto como pessoa quanto como profissional), pela oportunidade, enfim, obrigada por tudo! Sem a participação deste excelente profissional, o sucesso alcançado não teria sido completo.

Agradeço também, imensamente, à **Profa. Dra. Cláudia Ramos Rhoden**, a “Clod”, que me acolheu com muito carinho quando cheguei ao laboratório, que me apoiou quando soube que eu estava grávida – no meio do mestrado -, que me adotou como “filha do laboratório”, que sempre me deu um ombro amigo, que sempre me escutou, que sempre me ajudou e que muito me ensinou. Obrigada por todo o carinho que recebi da senhora. Obrigada mesmo!

Agradeço também ao melhor laboratório que existe na UFCSPA: o querido **Laboratório de Estresse Oxidativo e Poluição Atmosférica**, o laboratório 200, que, da mesma forma, me acolheu muito bem quando me apresentei a eles, que

sempre foram muito legais comigo, que sempre me respeitaram e souberam me escutar, que sempre foram meus amigos e companheiros. Quero agradecer a **cada um** dos integrantes deste maravilhoso grupo: OBRIGADA.

Agradeço à **Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre**, em especial ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**, por disponibilizar recursos para que o trabalho fosse concluído. Além disso, agradeço também à *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES* – pelo incentivo dado durante toda a execução do trabalho. OBRIGADA!

Agradeço também aos meus **amigos**, que souberam entender a minha ausência e respeitaram este tempo que estive “fora”. OBRIGADA pela amizade de vocês, ela é muito importante e fundamental na minha vida.

RESUMO

INFLUÊNCIA DO HÁBITO DE FUMAR SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DOS HORMÔNIOS SEXUAIS MASCULINOS

Introdução: Apesar dos efeitos nocivos provocados pelo uso do tabaco, o tabagismo continua sendo altamente prevalente, principalmente entre os homens. Devido à alta prevalência do uso do cigarro nesta população, há uma preocupação crescente sobre os efeitos do tabagismo na função reprodutiva masculina, pois acredita-se que o cigarro pode afetar a qualidade do esperma e influenciar os níveis hormonais. O impacto do tabagismo sobre os níveis de hormônios sexuais masculinos tem sido amplamente estudado. Porém, os resultados destes estudos são controversos.

Objetivos: O objetivo deste estudo é avaliar a influência do tabagismo, expresso como *pack-years of smoking*, nos níveis séricos de testosterona total (TT), de testosterona livre (FT), de testosterona biodisponível (BT), do hormônio luteinizante (LH), do hormônio folículo estimulante (FSH) e da globulina de ligação dos hormônios sexuais (SHBG).

Materiais e Métodos: Foram avaliados, neste estudo transversal, 255 homens (90 fumantes e 165 não-fumantes), com idade entre 30-70 anos. Todos os voluntários foram submetidos a uma avaliação clínica onde verificou-se a altura, o peso, a circunferência abdominal, a circunferência do quadril, a pressão arterial e calculou-se o índice de massa corporal e a relação cintura/quadril. Coletas de sangue em jejum foram realizadas para determinação da glicemia, do colesterol total, da Lipoproteína de Alta Densidade (HDL), dos triglicerídeos, da albumina, da prolactina (PRL), da TT, da SHBG, do LH e do FSH. Os valores da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL) foram calculados de acordo com a equação de Friedwald e os valores de FT e de BT foram calculados a partir da TT, da SHBG e da albumina. Para fins de significância estatística, considerou-se um $P \leq 0,05$.

Resultados: Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada nos valores médios de TT ($p=0,580$), FT ($p=0,869$), BT ($p=0,933$), SHBG ($p=0,279$), LH ($p=0,573$) e FSH ($p=0,693$) nos diferentes grupos de *pack-years* quando comparados com não-fumantes. Além disso, após regressão logística, nenhuma

associação foi encontrada entre a intensidade do tabagismo e aumento do risco para níveis subnormais dos hormônios avaliados e da SHBG.

Conclusões: No presente estudo, fumantes e não-fumantes tiveram valores similares de andrógenos, de gonadotrofinas e da SHBG. Porém, faz-se necessário padronizar o *pack-years of smoking* a fim de elucidar a influência do tabagismo nos níveis de hormônios sexuais, bem como para minimizar as diferenças entre estudos e para confirmar nossos resultados.

Palavras-chave: tabagismo, hipogonadismo, testosterona

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF CIGARETTE SMOKING ON SEXUAL HORMONE LEVELS IN MEN

Introduction: Despite the health hazards caused by tobacco use, cigarette smoking is still highly prevalent, especially among men. Due to the high prevalence of smoking in this population, there has been great concern about the effects of cigarette smoking on male reproductive function, because it is believed that cigarette smoking reduces semen quality and influences hormone levels. The impact of smoking on levels of male reproductive hormones has been widely studied. However, the results of these studies are controversial.

Objective: The aim of this study is to evaluate the influence of cigarette smoking (expressed in pack-years of smoking) on serum levels of total testosterone (TT), free testosterone (FT), bioavailable testosterone (BT), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) and sex hormone binding globulin (SHBG).

Materials and Methods: A total of 255 men (90 smokers and 165 non-smokers), aged 30-70, were evaluated in this cross-sectional study. All the volunteers underwent by a clinical examination in order to verify weight, height, waist circumference, hip circumference and blood pressure. Besides that, body mass index was calculated and waist-to-hip ratio was obtained. Fasting blood samples were drawn for determination of plasmatic glucose levels and serum levels of total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), triglycerides, albumin, prolactin (PRL), TT, SHBG, LH and FSH. The values of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) were determined by Friedwald equation and the values of FT and BT were calculated from TT, SHBG and albumin. Statistical significance was set at $P \leq 0.05$.

Results: No significant difference was observed in the mean values of TT ($p=0.580$), FT ($p=0.869$), BT ($p=0.933$), SHBG ($p=0.279$), LH ($p=0.573$) and FSH ($p=0.693$) in the different levels of pack-years when compared to non-smokers. Moreover, after multivariate logistic regression, no association between increased pack-years of

smoking and increased *Odds Ratio* for occurrence of low hormones and SHBG levels was observed.

Conclusion: In this study, smokers and non-smokers had similar mean values of androgens, gonadotropins and SHBG. However, it is necessary to standardize pack-years of smoking in order to elucidate the influence of cigarette smoking on sex hormone levels, as well as to minimize differences among studies and to confirm our results.

Key-words: cigarette smoking, hypogonadism, testosterone

1. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA –245, Sarmiento Leite, street, telephone number: 33038800.

SUMÁRIO

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| RESUMO..... | 6 |
| ABSTRACT..... | 8 |
| REVISÃO DA LITERATURA..... | 14 |
| 1 TABAGISMO..... | 14 |
| 1.1 HISTÓRIA DO TABAGISMO..... | 14 |
| 1.2 EPIDEMIOLOGIA..... | 16 |
| 1.2.1 Doenças Cardiovasculares..... | 18 |
| 1.2.2 Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC)..... | 18 |
| 1.2.3 Câncer..... | 19 |
| 1.2.4 Tabagismo e outras doenças..... | 20 |
| 1.3 PREJUÍZOS ECONÔMICOS PROVOCADOS PELO TABAGISMO..... | 21 |
| 1.4 CONSTITUENTES QUÍMICOS DO CIGARRO..... | 23 |
| 1.4.1 Nicotina..... | 26 |
| 1.4.1.1 Farmacocinética..... | 27 |
| 1.4.1.2 Farmacodinâmica..... | 28 |
| 1.4.1.3 Efeitos da nicotina sobre os diversos sistemas..... | 33 |
| 1.4.1.3.1 Sistema Nervoso Periférico (SNP)..... | 33 |
| 1.4.1.3.2 Sistema Nervoso Central (SNC)..... | 33 |
| 1.4.1.3.3 Sistema Cardiovascular..... | 34 |
| 1.4.1.3.4 Trato gastrointestinal..... | 34 |
| 1.4.1.3.5 Glândulas exócrinas..... | 34 |
| 1.5 QUANTIFICAÇÃO DO TABAGISMO..... | 34 |
| 2 HORMÔNIOS SEXUAIS MASCULINOS..... | 36 |
| 2.1 REGULAÇÃO HORMONAL DAS FUNÇÕES REPRODUTIVAS..... | 36 |
| 2.1.1 GnRH..... | 37 |
| 2.1.2 HORMÔNIOS GONADOTRÓPICOS..... | 38 |
| 2.1.3 TESTOSTERONA..... | 39 |
| 2.1.3.1 Síntese..... | 39 |
| 2.1.3.2 Metabolismo..... | 43 |
| 2.1.3.3 Mecanismo de Ação..... | 45 |
| 2.1.3.4 Efeitos da Testosterona no organismo..... | 46 |
| 2.1.4 REGULAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-GÔNADAS..... | 47 |
| 2.1.5 POSSÍVEIS FATORES QUE ALTERAM OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE TESTOSTERONA..... | 48 |
| 3 TABAGISMO VERSUS HORMÔNIOS SEXUAIS MASCULINOS..... | 53 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 58 |
| JUSTIFICATIVA..... | 67 |
| OBJETIVO DO ESTUDO..... | 68 |
| ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS..... | 69 |
| RESUMO..... | 71 |
| INTRODUÇÃO..... | 72 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 73 |
| RESULTADOS:..... | 77 |
| DISCUSSÃO..... | 78 |
| CONCLUSÃO..... | 82 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 88 |
| ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS..... | 95 |
| ABSTRACT..... | 97 |
| INTRODUCTION..... | 98 |
| MATERIAL AND METHODS:..... | 99 |
| RESULTS:..... | 102 |
| DISCUSSION..... | 103 |
| CONCLUSION..... | 106 |
| REFERENCES..... | 112 |
| CONCLUSÕES DO ESTUDO..... | 120 |
| APÊNDICES..... | 121 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Fórmula estrutural da nicotina (Adaptado de BENOWITZ, NL. Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing and Treating Tobacco Addiction Clin Pharmacol Ther. 2008 Apr;83(4):531-41. Epub 2008a Feb 27).27
- Figura 2-** Principais rotas metabólicas da nicotina (BENOWITZ, NL. Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing and Treating Tobacco Addiction Clin Pharmacol Ther. 2008 Apr;83(4):531-41. Epub 2008a Feb 27).28
- Figura 3–** Estrutura do receptor colinérgico nicotínico (RANG *et al.* Pharmacology – How drugs act: molecular aspects. 5th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier Science, 2003; com permissão).29
- Figura 4–** Neurotransmissores liberados frente à estimulação da nicotina sobre os receptores nicotínicos (Adaptado de BENOWITZ, NL. Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing and Treating Tobacco Addiction. Clin Pharmacol Ther. 2008a Apr;83(4):531-41. Epub 2008 Feb 27).31
- Figura 5–** Estrutura química da Testosterona (Adaptado de BRAUNSTEIN, GD. Testes In: GARDNER, DG; SHOBACK, D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed: McGraw-Hill Companies, Inc, 2007, p.473).39
- Figura 6–** Mecanismos de controle da androgênese (COOKE, BA. Signal transduction involving cyclic AMP-dependent and cyclic AMP-independent mechanisms in the control of steroidogenesis. Molecular and Cellular Endocrinology 151 (1999) 25–35).41
- Figura 7–** Biossíntese de testosterona em humanos (BRAUNSTEIN, GD. Testes In: GARDNER, DG; SHOBACK, D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed: McGraw-Hill Companies, Inc, 2007, p.473).43
- Figura 8–** Conversão da testosterona em metabólitos ativos (SWERDLOFF, RS; WANG C. In Goldman *et al*: Cecil – Textbook of Medicine. 22nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004. p.1473, com permissão).45
- Figura 9-** Mecanismo de ação da testosterona (BRAUNSTEIN, GD. Testes In: GARDNER, DG; SHOBACK, D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed: McGraw-Hill Companies, Inc, 2007, p.474).46
- Figura 10 -** Controle hormonal do eixo hipotalâmico-hipofisário-gônadas (BRAUNSTEIN, GD. Testes In: GARDNER, DG; SHOBACK, D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed: McGraw-Hill Companies, Inc, 2007, p.475).48

LISTA DE ABREVIATURAS

- 3HC – Trans-3'-Hidroxicotina
- 3 β -HSD - 3 β -hidroxiesteróide dehidrogenase
- AA –Ácido araquidônico
- AMPc – Adenosina monofosfato cíclico
- ATP – Trifosfato de adenosina
- BT – Testosterona Biodisponível
- DAG - Diacilglicerol
- DE – Disfunção Erétil
- DEA – Deidroepiandrosterona
- DHT – Diidrotestosterona
- DM2 – Diabete mellitus tipo 2
- DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
- E2 – Estradiol
- FSH - Hormônio Folículo Estimulante
- FT – Testosterona Livre
- GABA - Ácido Gama-Aminobutírico
- GnRH – Hormônio Liberador das Gonadotrofinas
- HDL - Lipoproteína de Alta Densidade
- HMB – Hipotálamo médio basal
- IMC – Índice de Massa Corporal
- IP₃ - Trifosfato de Inositol
- LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade
- LH - Hormônio Luteinizante

MAO – Monoamino-oxidase

NMDA – N-metil-D-aspartato

OMS – Organização Mundial da Saúde

P450c17 – 17- α hidroxilase/G17-20 liase

P450scc – Enzima citocromo-P450 de clivagem da cadeia lateral do colesterol

PIP₂ - Difosfato de Fosfatidilinositol

PKA – Proteína-quinase A

PKC - Proteína-quinase C

PRL – Prolactina

PSA – Antígeno Prostático Específico

SHBG – Globulina de Ligação dos Hormônios Sexuais

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Periférico

StAR – Proteína de Regulação Aguda da Esteroidogênese

TT – Testosterona Total

REVISÃO DA LITERATURA

1 TABAGISMO

1.1 HISTÓRIA DO TABAGISMO

Acredita-se que a origem da planta do tabaco tenha ocorrido na América há aproximadamente 10 mil anos (LEITE, 2006; PROCTOR, 2001) e por volta de 1000 a.C. a planta de tabaco já se encontrava disseminada em todo o continente americano (LEITE, 2006). O hábito de fumar disseminou-se para as diferentes tribos da América Central e do Norte através da civilização Maia e os Astecas foram os responsáveis pelas formas sociais deste hábito (LEITE, 2006).

Cristóvão Colombo, em 1492, ao desembarcar no Continente Americano, descobriu o tabaco e, a partir de então, o mesmo foi difundido por toda a Europa muito provavelmente relacionado com a ida e vinda destas expedições marítimas. No mesmo ano, os espanhóis Rodrigo de Jerez e Luis de Torres, ao explorarem Cuba, observaram o hábito tabágico dos nativos, descreveram seus efeitos e levaram para a Corte Espanhola plantas e sementes de tabaco (BORIO, 2007; LEITE, 2006). A segunda expedição de Colombo às Américas, ocorrida em 1493, trouxe Ramón Pané, um monge que descreveu exaustivamente o hábito tabágico e os efeitos relacionados ao consumo desta substância (BORIO, 2007; LEITE, 2006). Embora Jerez e Torres tenham sido os primeiros a levar plantas e sementes de tabaco à Espanha em 1492, a introdução do tabaco na Europa é creditado a Ramón Pané (BORIO, 2007).

No Brasil, o tabaco foi descoberto por Pedro Álvares Cabral no ano do seu descobrimento (BORIO, 2007). As primeiras plantas de tabaco foram cultivadas em

1548 no Brasil, em 1550 no Japão e em 1560 na Coréia, e paralelamente a isso o tabaco era introduzido comercialmente na Europa (LEITE, 2006). Interessante é o fato de que na Inglaterra o tabaco foi apenas introduzido no ano de 1565 por Sir John Hawkins (BORIO, 2007).

No final do século XVI, diversas doenças tais como enxaqueca, disenteria, cólica, histeria, nefrite e outras 36 mais eram tratadas com tabaco, tanto na forma fumada quanto inalada (LEITE, 2006). O tabaco chegou a ser recomendado para o tratamento de câncer, em 1577, na Inglaterra (BORIO, 2007). Porém, após a euforia inicial, relatos médicos referentes aos efeitos nocivos do tabagismo começaram a surgir (LEITE, 2006).

O quadro clínico da intoxicação aguda pelo tabaco é descrito pela primeira vez em 1701 pelo médico inglês Nicholas Andryde Borsregard e, em 1791, John Hill publica a hipótese de que o tabagismo seria o responsável pelo aparecimento de câncer nasal (LEITE, 2006). Além disso, são descritas associações entre câncer de lábio e faringe com o tabagismo (LEITE, 2006). Contudo, é apenas em 1912 que, pela primeira vez, sugere-se veementemente que o câncer de pulmão está intimamente relacionado ao consumo de cigarro (BORIO, 2007; PROCTOR, 2001).

No ramo científico, até o final do século XIX, pouco se publicava sobre o tabagismo e os relatos existentes eram de difícil acesso, exceto para a comunidade científica. Contudo, o primeiro artigo sobre tabagismo e seus riscos foi publicado em 1858 pela renomada revista *The Lancet* (LEITE, 2006). Já em 1930, pesquisadores alemães encontraram correlação estatisticamente significativa entre câncer e tabagismo (BORIO, 2007). Em 1939, um tratado composto de 1100 páginas é publicado pelo Dr. Fritz Lickint. O tratado englobou um grande estudo sobre a ocorrência de tumores malignos na boca, na língua, nos lábios, na mandíbula, na

faringe, na laringe, no esôfago e nos pulmões associados ao tabagismo (LEITE, 2006). No mesmo ano, Franz Hermann Müller produziu o primeiro estudo caso-controle sobre a relação entre o tabagismo e o câncer de pulmão, concluindo que o tabagismo era o principal causador da doença (PROCTOR, 2001). Já em 1950, três estudos epidemiológicos são publicados descrevendo a relação do hábito de fumar com o câncer de pulmão, porém o primeiro aviso oficial sobre esta associação foi dado pela autoridade médica apenas em 1964, 14 anos após a publicação dos estudos. É interessante observar que somente em 1970 a Organização Mundial da Saúde se posiciona categoricamente contra o hábito tabágico pelo risco relacionado ao surgimento de diversas doenças (LEITE, 2006).

1.2 EPIDEMIOLOGIA

Apesar do tabagismo ser considerado a única causa evitável de morte atualmente (WHO, 2008a; WHO, 2008b), ele ainda é a segunda maior causa de morte no mundo (DAUDT, 2006), representando um problema de saúde pública tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2003).

A produção de cigarro manufaturado aumentou incrivelmente a partir de 1880 devido à criação da máquina Bonsack, a qual era capaz de manufaturar 100.000 cigarros por dia (PROCTOR, 2001). Nesta época, fumava-se cerca de 8 cigarros por pessoa, e este número quadruplicou no final do século (PROCTOR, 2001). A partir do século XIX, o hábito tabágico era de caráter mundial e em escala progressiva (THE WORLD BANK, 1999). Este aspecto pode ser exemplificado pelo fato de que nos Estados Unidos no ano de 1900 eram consumidos 4,4 bilhões de cigarros anualmente, passando para 73 bilhões de cigarros em 1924 (BORIO, 2007).

Atualmente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 22% dos adultos (≥ 15 anos) são fumantes, 36% são homens e 8% são mulheres, sendo que cerca de 2/3 dos fumantes vivem em apenas 10 países: Bangladesh, Brasil, China, Alemanha, Índia, Indonésia, Japão, Rússia, Turquia e Estados Unidos (WHO, 2008a). No Brasil, a prevalência média de adultos fumantes, em 2006, foi de 16,2%, sendo 20% homens e 12,8% mulheres (WHO, 2008b). Entre as capitais brasileiras estudadas no Inquérito Domiciliar sobre Comportamentos de Risco e Morbidade Referida de Doenças e Agravos Não Transmissíveis (2003), Porto Alegre foi a capital que teve maior percentual de fumantes regulares, com 25% de fumantes. De acordo com o mesmo estudo, 28% dos homens de Porto Alegre fumam e 23% das mulheres também possuem o mesmo hábito, sendo estes números maiores do que em muitas outras capitais brasileiras, como São Paulo, Belo Horizonte e João Pessoa (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2003).

Apesar do consumo de cigarro ter diminuído em alguns países industrializados (SHAFEY *et al.*, 2003), estima-se que no ano de 2010 haverá cerca de 1,45 bilhões de fumantes e esse número deve aumentar para 1,7 bilhões de pessoas no ano de 2025 (GUINDON *et al.*, 2003).

Atualmente, o tabagismo é responsável por uma a cada 10 mortes em adultos, mundialmente. Acredita-se que mais de 5 milhões de pessoas por ano morrerão devido à alguma doença relacionada ao uso de tabaco (WHO, 2008b). Estima-se que o cigarro será responsável por 10% das mortes ocorridas globalmente e o mesmo matará 8,3 milhões de pessoas em 2030 (WHO, 2008a; WHO, 2008b, MATHERS *et al.*, 2006), sendo mais de 80% destas mortes em países em desenvolvimento (WHO, 2008a; WHO, 2008b). Porém, nos países

desenvolvidos, projeta-se que as mortes atribuídas ao tabagismo diminuirão em 9% entre 2002 e 2030 (MATHERS *et al.*, 2006).

As principais doenças relacionadas ao uso do tabaco são doenças cardiovasculares, doenças respiratórias crônicas e câncer (DAUDT, 2006). Cerca de 1,69 milhões de mortes por doenças cardiovasculares, 0,97 milhões de mortes por doença pulmonar obstrutiva crônica e 0,85 milhões de mortes por câncer de pulmão são atribuídos ao uso do cigarro (EZZATI *et al.*, 2004). No Brasil, aproximadamente 60% das mortes ocorridas em 1998 foram causadas por doenças circulatórias (32%), câncer (14%) e por doenças respiratórias (12%), sendo que os fumantes, em relação aos não-fumantes, apresentaram maiores taxas de mortalidade por todas estas causas (DAUDT, 2006).

1.2.1 Doenças cardiovasculares

O tabagismo é responsável por cerca de 20% a 35% das mortes por doenças cardiovasculares (DAUDT, 2006).

Há fortes evidências na literatura indicando que o tabagismo provoca danos endoteliais, disfunção celular, aterosclerose, complicações trombóticas, além de diminuir a capacidade da hemoglobina de carregar oxigênio, levando a um aumento da demanda fisiológica do miocárdio (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2004).

1.2.2 Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC).

O tabagismo é responsável por aproximadamente 75% das mortes por doenças respiratórias crônicas (DAUDT, 2006). Um estudo realizado em 2002 nas 5 maiores cidades da América Latina (São Paulo, Santiago do Chile, Cidade do

México, Montevideo e Caracas) demonstrou que a prevalência de DPOC entre fumantes da cidade de São Paulo foi de 21,8% comparados contra 12,5% dos não-fumantes (MENEZES *et al.*, 2005).

1.2.3 Câncer

O hábito tabágico está associado à pelo menos 16 tipos de câncer, entre eles o câncer de pulmão, da cavidade oral, dos seios nasais, da faringe, da laringe, do esôfago, do estômago, do pâncreas, do fígado, do cólon, do reto, da bexiga, do rim, do colo do útero, câncer cervical e do endométrio, além de leucemia mieloide (DAUDT, 2006; U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2004). Embora não haja evidências suficientes, estudos apontam que fumantes possuem uma taxa de mortalidade de câncer de próstata maior que os não-fumantes (ROHRMANN, *et al.*, 2007; U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2004).

Embora o cigarro possa estar envolvido com todas estas neoplasias malignas, é o câncer de pulmão que possui uma associação mais forte e clara com o tabagismo (DAUDT, 2006), matando aproximadamente 1,1 milhões de pessoas por ano (PROCTOR, 2004).

No Brasil, para o ano de 2008, o número estimado de novos casos de câncer de pulmão foi de 17,810 entre os homens e de 9,460 entre as mulheres, correspondendo a um risco de 19 novos casos a cada 100 mil homens e de 10 novos casos a cada 100 mil mulheres (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2007).

1.2.4 Tabagismo e outras doenças.

Estudos de coorte têm indicado que o tabagismo pode ser um fator de risco independente e modificável de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (WILLI *et al.*, 2007; WILL *et al.*, 2001). Uma grande coorte realizada entre 1959 e 1972, com 275.190 homens e 434.637 mulheres com idade igual ou superior a 30 anos, demonstrou que o tabagismo aumentou o risco de diabetes mellitus do tipo 2 tanto em homens quanto em mulheres. Além disso, encontrou-se uma relação dose-resposta entre o aumento do consumo de cigarros com a incidência desta patologia (WILL *et al.*, 2001). Uma recente meta-análise que incluiu 25 estudos (1,2 milhões de participantes) concluiu que o tabagismo está realmente associado com aumento no risco de DM2 (WILLI *et al.*, 2007).

O tabagismo também está associado com o aumento do risco de osteoporose (KAPOOR *et al.*, 2005; MACKAY *et al.*, 2002), com a antecipação da menopausa (KAPOOR *et al.*, 2005; MACKAY *et al.*, 2002; THE PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2004), com o aumento do risco de disfunção erétil (DE) (ANDERSEN *et al.*, 2008; CHEW *et al.*, 2008; KANDEEL *et al.*, 2001; NATALI *et al.*, 2004, TELES *et al.*, 2008;) além de causar possíveis problemas de fertilidade em ambos os sexos (KAPOOR *et al.*, 2005; MACKAY *et al.*, 2002; PASQUALOTTO *et al.*, 2005; THE PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2004).

Entre as possíveis causas para problemas de fertilidade em mulheres estão o atraso na concepção (MACKAY *et al.*, 2002; THE PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2004), a depredação ovariana folicular (causada por alterações hormonais), além de danos na

gametogênese, todas promovidas pelo cigarro (THE PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2004).

Nos homens, a infertilidade pode estar associada a mudanças nos parâmetros convencionais do esperma, além de alterações hormonais e a DE.

Alguns estudos sugerem que o cigarro reduz a qualidade do esperma por diminuir a concentração de espermatozóides, por diminuir a motilidade dos mesmos além de aumentar o percentual de espermatozóides com alterações morfológicas (RAMLAU-HANSEN *et al.*, 2007; SOFIKITIS *et al.*, 1995; VINE, 1996). De acordo com Vine (1996), o cigarro pode afetar a qualidade do esperma ao influenciar os níveis hormonais (VINE, 1996).

1.3 PREJUÍZOS ECONÔMICOS PROVOCADOS PELO TABAGISMO

Além de causar danos incontestáveis à saúde humana, o tabagismo é responsável por prejuízos econômicos, principalmente devido à gastos em saúde por doenças atribuíveis ao seu uso.

Na Alemanha, o custo total atribuído ao consumo de cigarro foi de €21 bilhões, dos quais 35,6% foram relacionados a custos diretos e 64,4% relacionados a custos indiretos. Entre os gastos com custos diretos provocados pelo tabagismo, 49,9% são atribuíveis à doenças cardiovasculares, 25% devido à doenças respiratórias e 22,6% devido à neoplasias. Dentre os custos indiretos, 56% dos gastos foram devidos à aposentadoria precoce causada por alguma doença tabaco-atribuível e 44% devidos à dias perdidos de trabalho. O custo causado pelo cigarro nos cofres públicos da Alemanha aumentou em 35,8% no período de 10 anos, entre 1993 e 2003 (NEUBAUER *et al.*, 2006).

Já na China, um dos maiores produtores e consumidores de tabaco do mundo, o custo econômico total (entre custos diretos e indiretos) na saúde, em 2000, atribuível ao cigarro, foi de US\$ 5,0 bilhões. A perda de produtividade por faltas no trabalho causada por doenças relacionadas ao tabagismo promoveu perdas de US\$270,6 milhões (SUNG *et al.*, 2006).

A Coréia, em 1998, gastou US\$2.269,42 a US\$4.580,25 milhões a mais do que o previsto no orçamento anual devido aos gastos com custos diretos (custos com hospitalização, médicos e medicação) e aos custos indiretos (baixa produtividade no trabalho) provocados pelo tabagismo (KANG *et al.*, 2003).

Em 1992, o prejuízo econômico causado pelo tabaco no Canadá foi superior à Can\$9,5 bilhões, sendo que mais de Can\$6,82 bilhões são devido à perda de produtividade dos fumantes (SINGLE *et al.*, 1998). Porém, em 2002, este prejuízo foi estimado em Can\$17 bilhões (REHM *et al.*, 2007).

Nos Estados Unidos, entre 1995 e 1999, os custos econômicos provocados por doenças relacionadas ao tabagismo foram de US\$75,5 bilhões por custos médicos diretos e US\$81,9 bilhões por perdas na produtividade (NIH STATE-OF-THE-SCIENCE PANEL, 2006). Somente no estado da Califórnia, em 1999, os prejuízos totais chegaram a US\$15,8 bilhões, sendo que 54% desse total representam custos diretos com a saúde, 36% representam custos devido à baixa produtividade causada por morte prematura e 10% representam custos devido à doenças tabaco-atribuíveis (MAX *et al.*, 2004).

Infelizmente, dados como os apresentados acima não existem para o Brasil.

Além de prejuízos econômicos, o tabaco causa prejuízos ambientais devido à poluição promovida pela utilização de pesticidas e fertilizantes durante o plantio do

tabaco e pelo desmatamento necessário para a cura da folha do tabaco (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2003).

1.4 CONSTITUINTES QUÍMICOS DO CIGARRO

A fumaça do cigarro é um complexo aerossol composto por diversas substâncias distribuídas entre a fase gasosa e particulada (HOFFMANN *et al.*, 2001; WOOTEN *et al.*, 2006).

Até o presente momento, já foram identificados 4700 compostos presentes na fumaça do cigarro (WOOTEN *et al.*, 2006) sendo que, até o ano de 2000, foram identificadas 69 substâncias carcinogênicas à humanos (HOFFMANN *et al.*, 2001).

Os grupos funcionais dos elementos químicos presentes no tabaco e na fumaça do cigarro estão listados na tabela 1.

Tabela 1 – Compostos químicos identificados no tabaco e na fumaça do cigarro

| Grupos Funcionais | Número no tabaco | Número na fumaça | Número no tabaco e na fumaça |
|------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| Ácidos carboxílicos | 450 | 69 | 140 |
| Aminoácidos | 95 | 18 | 16 |
| Lactonas | 129 | 135 | 39 |
| Ésteres | 529 | 456 | 314 |
| Amidas e Imidas | 205 | 227 | 32 |
| Anidridos | 10 | 10 | 4 |
| Aldeídos | 111 | 106 | 48 |
| Carboidratos | 138 | 30 | 12 |
| Nitrilos | 4 | 101 | 4 |
| Cetonas | 348 | 461 | 122 |
| Alcoóis | 334 | 157 | 69 |
| Fenóis | 58 | 188 | 40 |
| Aminas | 65 | 150 | 37 |
| <i>N</i> -nitrosaminas | 23 | 18 | 19 |
| Compostos de enxofre | 3 | 37 | 2 |
| Piridinas <i>N</i> -heterocíclicas | 63 | 324 | 46 |
| Piróis e índois | 9 | 88 | 3 |
| Pirazinas | 21 | 55 | 18 |
| Não-aromáticos | 13 | 43 | 7 |
| Aromáticos policíclicos | 1 | 36 | 0 |
| Éteres | 53 | 88 | 15 |
| Hidrocarbonetos alifáticos saturados | 58 | 113 | 44 |
| Hidrocarbonetos alifáticos não-saturados | 38 | 178 | 10 |
| Aromáticos monocíclicos | 33 | 138 | 25 |
| Aromáticos policíclicos | 55 | 317 | 35 |
| Pesticidas | 28 | 25 | 25 |
| Resíduos químicos | 112 | 110 | 19 |
| Inorgânicos e metais | 105 | 111 | 69 |

Adaptado de Hoffmann et al., 2001

A fase gasosa é composta principalmente de nitrogênio (60%), oxigênio (13%), dióxido de carbono (13%), monóxido de carbono (3,5%), água (2%), argônio (1%), hidrogênio (0,1-0,2%), acetona (1%), óxidos de nitrogênio (<0,1%) e

compostos voláteis de enxofre (<0,1%). Já os principais componentes da fase particulada da fumaça são constituídos por nicotina (0,2 a 0,6% do peso da fumaça total), alcalóides (0,02%) e compostos específicos solanáceos (HOFFMANN *et al.*, 2001).

A tabela 2 mostra os prováveis agentes causadores das principais doenças relacionadas ao tabaco. No presente trabalho, enfocaremos na nicotina, pois é o principal agente responsável pela dependência ao tabaco (PLANETA, 2006).

Tabela 2 – Prováveis agentes causadores de doenças provocadas pelo tabagismo

| Doença | Principais Agentes | Possíveis agentes associados |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Dependência ao cigarro | Nicotina | Acetaldeído |
| Doenças cardiovasculares | Monóxido de carbono, óxidos de nitrogênio, cianeto de hidrogênio, alcatrão | Nicotina, espécies alquilantes |
| Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica | Cianeto de hidrogênio, aldeídos voláteis, óxidos de nitrogênio, monóxido de carbono, alcatrão | |
| Câncer de pulmão e laringe | Hidrocarbonetos aromáticos poli-nucleares, 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona | Catecol, promotores tumorais |
| Câncer da cavidade oral | <i>N</i> -nitrosornicotina, 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona | <i>Herpes simplex</i> , dieta e álcool |
| Câncer esofágico | <i>N</i> -nitrosornicotina | Álcool e dieta |
| Câncer no pâncreas | 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona, 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanol | dieta |
| Câncer de bexiga | 4-aminobifenil, 2-naftilamina e outras aminas aromáticas | |

Adaptado de Hoffmann *et al.*, 2001.

1.4.1 Nicotina.

A nicotina (figura 1) é um dos poucos alcalóides líquidos naturais e é encontrada na folha da planta *Nicotiana tabacum*. A nicotina foi isolada desta planta pela primeira vez em 1828 por Posselt e Reimar. A nicotina é uma base volátil

(pKa=8,5), incolor, que, em contato com o ar, torna-se marrom e adquire o odor típico do cigarro (TAYLOR, 2006).



Figura 1- Fórmula estrutural da nicotina (Adaptado de BENOWITZ, NL. Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing and Treating Tobacco Addiction Clin Pharmacol Ther. 2008 Apr;83(4):531-41. Epub 2008a Feb 27).

1.4.1.1 Farmacocinética

A nicotina é rapidamente absorvida pelo trato respiratório, pelas membranas bucais e pela pele (PLANETA, 2006; TAYLOR, 2006) e atinge o Sistema Nervoso Central (SNC) em poucos segundos, após a inalação, através da circulação arterial (BENOWITZ, 2008a; PLANETA, 2006).

Aproximadamente 80% a 90% da nicotina presente no organismo é metabolizada no fígado pela enzima CYP2A6 e, em menor proporção, pelas enzimas CYP2B6 e CYP2E1 (BENOWITZ, 2008b; PLANETA, 2006; TAYLOR, 2006). O produto do metabolismo da nicotina é a cotinina, que, por sua vez, é metabolizada a trans-3'-hidroxicotinina (3HC) exclusivamente pela enzima CYP2A6. A nicotina e a cotinina também são metabolizadas por glucuronidação através da via UGT1A4, 1A9 e 2B10. Embora esta via seja pouco utilizada, em pessoas com diminuição da atividade da CYP2A6 esta via pode ser utilizada na depuração da nicotina (BENOWITZ, 2008b).

A figura 2 mostra as principais rotas metabólicas da nicotina em humanos.

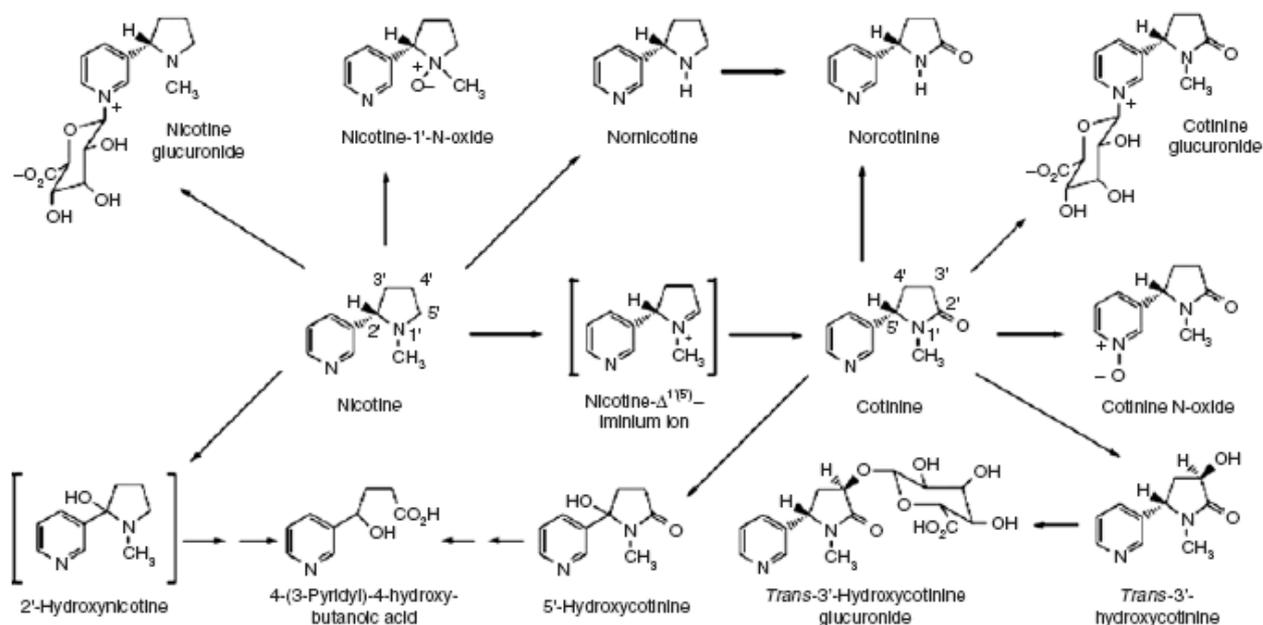


Figura 2- Principais rotas metabólicas da nicotina (BENOWITZ, NL. Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing and Treating Tobacco Addiction Clin Pharmacol Ther. 2008 Apr;83(4):531-41. Epub 2008a Feb 27).

O tempo de meia-vida da nicotina é de aproximadamente 2 horas (BENOWITZ, 2008b; PLANETA, 2006), porém o seu metabólito cotelina é mais estável, possuindo um tempo de meia-vida de aproximadamente 16 horas (BENOWITZ, 2008b).

1.4.1.2 Farmacodinâmica

As ações farmacológicas da nicotina são complexas e freqüentemente imprevisíveis (TAYLOR, 2006). Baixas doses de nicotina podem estimular o SNC, enquanto altas doses são capazes de deprimi-lo, pois a nicotina é capaz de provocar despolarização prolongada dos gânglios, levando ao seu bloqueio (BENOWITZ, 2008b; RANG *et al.*, 2003). A ação dose-dependente da nicotina no organismo não ocorre somente pela sua ação em diversos neurotransmissores, mas também pela sua ação estimulante e capaz de dessensibilizar os receptores nicotínicos (TAYLOR, 2006).

A nicotina atua nos receptores colinérgicos nicotínicos (figura 3), que são encontrados tanto no SNC quanto no periférico (BENOWITZ, 2008a; HATSUKAMI *et al.*, 2008).

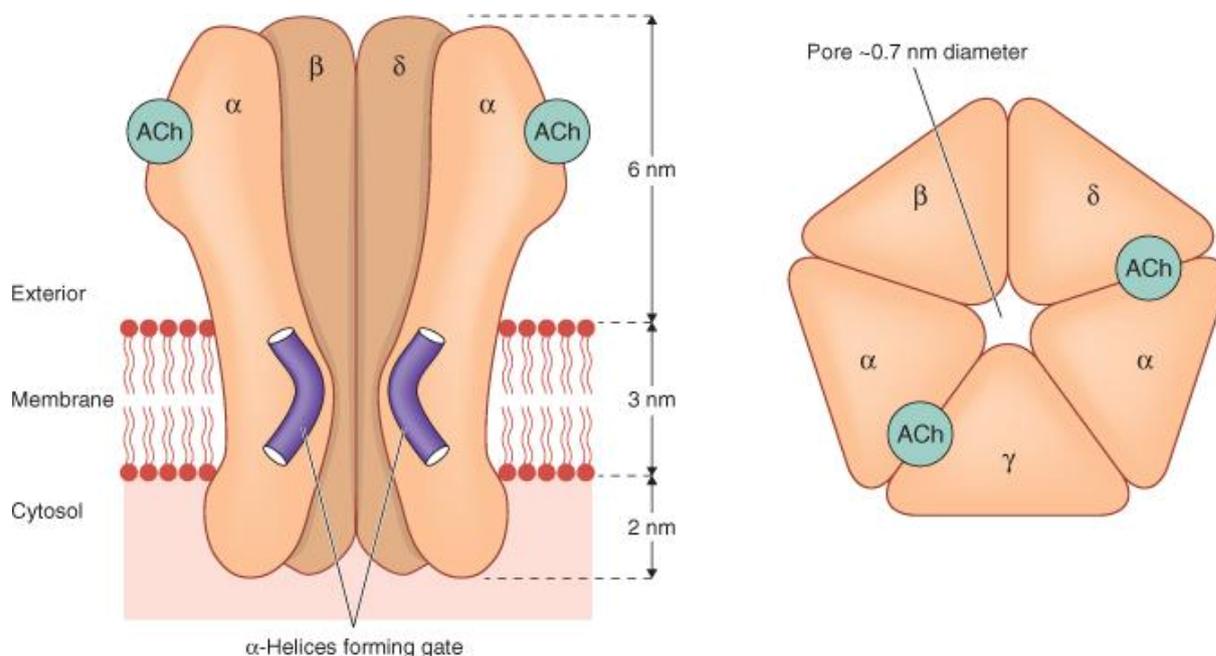


Figura 3– Estrutura do receptor colinérgico nicotínico (RANG *et al.* Pharmacology – How drugs act: molecular aspects. 5thed. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier Science, 2003; com permissão).

Os receptores nicotínicos são receptores ionotrópicos, ou seja, são canais iônicos regulados por ligantes (BENOWITZ, 2008a; BENOWITZ, 2008b; PLANETA, 2006; PORTUGAL *et al.*, 2008). Estes receptores consistem em um arranjo pentamérico de subunidades, que podem existir tanto na forma homomérica (receptores compostos por apenas 1 subunidade) ou na forma heteromérica (receptores compostos por subunidades diferentes) (PLANETA, 2006; PORTUGAL *et al.*, 2008; RANG *et al.*, 2003). Estas 5 subunidades formam uma canal central que é permeável ao sódio, ao potássio e ao cálcio (BALFOUR *et al.*, 1996). A nicotina, ao se ligar no receptor, aumenta sua permeabilidade aos cátions, os quais, por sua vez, ativam canais de cálcio voltagem-dependentes, despolarizando a célula,

aumentando, assim, a probabilidade de gerar um potencial de ação (BENOWITZ, 2008b; RANG *et al.*, 2003).

Atualmente, já foram clonadas 12 subunidades dos receptores nicotínicos neuronais: 9 subunidades α ($\alpha 2 - \alpha 10$) e 3 subunidades β ($\beta 2- \beta 4$) (BENOWITZ, 2008a; BENOWITZ, 2008b; PLANETA, 2006; PORTUGAL *et al.*, 2008) e 5 subunidades dos receptores nicotínicos musculares ($\alpha 1, \beta 1, \gamma, \delta, \epsilon$) (PORTUGAL *et al.*, 2008).

Diversos estudos demonstram que os subtipos $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 3 \beta 4$ e $\alpha 7$ são os mais abundantes no SNC (BENOWITZ, 2008a; BENOWITZ, 2008b; PORTUGAL *et al.*, 2008). Acredita-se que o subtipo $\alpha 4\beta 2$ seja o principal receptor responsável pela dependência que o cigarro causa (BENOWITZ, 2008a). A subunidade $\alpha 4$ é importante pois a mesma determina a sensibilidade à nicotina, já a presença da subunidade $\beta 2$ é importante para a liberação de dopamina, além de ser responsável pelos efeitos comportamentais provocados pela nicotina. Já os subtipos $\alpha 3\beta 4$ e possivelmente o $\alpha 7$ são responsáveis pelos efeitos cardiovasculares da substância. Ainda, o subtipo $\alpha 7$ está envolvido na transmissão sináptica rápida e pode estar envolvido no processo de aprendizado (BENOWITZ, 2008a; BENOWITZ, 2008b).

A ativação dos receptores nicotínicos facilita a liberação de diversos neurotransmissores, especialmente de dopamina, que é essencial para que aconteçam os efeitos reforçadores causados pelo cigarro (BENOWITZ, 2008a; BENOWITZ, 2008b). A nicotina aumenta a liberação de dopamina na área mesolímbica, no corpo estriado e no córtex pré-frontal ao estimular receptores $\alpha 4\beta 2$ localizados na região somatodendrítica e pré-sináptica dos neurônios dopaminérgicos (PLANETA, 2006). Contudo, os neurônios dopaminérgicos da área tegmental ventral e o aumento da dopamina no núcleo accumbens são de extrema

importância uma vez que estas áreas parecem estar envolvidas no circuito de gratificação/prazer/recompensa do cérebro além de estarem envolvidas no desenvolvimento de dependência (BENOWITZ, 2008a; BENOWITZ, 2008b). Outros neurotransmissores incluindo noradrenalina, acetilcolina, serotonina, ácido- γ -aminobutírico (GABA), glutamato e endorfina também são liberados devido ao estímulo da nicotina. Estes neurotransmissores são capazes de mediar vários comportamentos associados a estas substâncias, como ilustra a figura 4 (BENOWITZ, 2008a; BENOWITZ, 2008b).

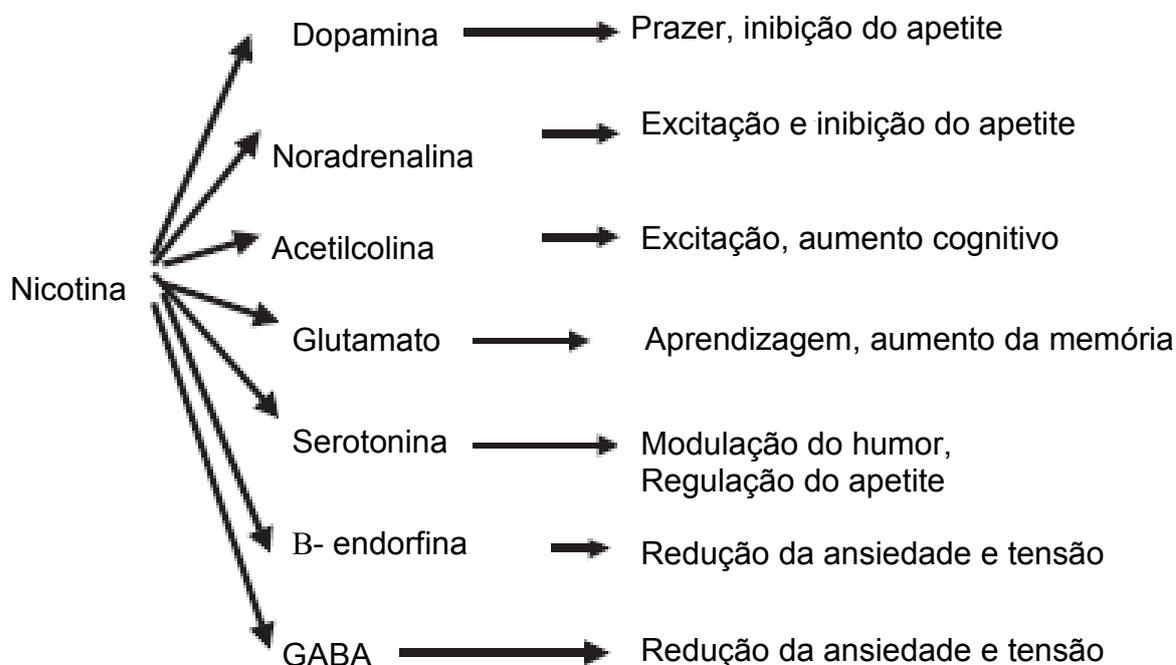


Figura 4– Neurotransmissores liberados frente à estimulação da nicotina sobre os receptores nicotínicos (Adaptado de BENOWITZ, NL. Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing and Treating Tobacco Addiction. Clin Pharmacol Ther. 2008a Apr;83(4):531-41. Epub 2008 Feb 27).

A área tegmental ventral é estimulada por neurônios glutamatérgicos provenientes do córtex pré-frontal e inibida por neurônios GABAérgicos, sendo que ambos são estimulados pela nicotina (BENOWITZ, 2008b). A nicotina, ao estimular receptores nicotínicos $\alpha 7$ dos neurônios glutamatérgicos, modula a liberação de glutamato, por aumentar o influxo de cálcio para dentro do neurônio. Este glutamato

liberado ativa receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) localizados nos neurônios dopaminérgicos, aumentando a permeabilidade da membrana ao cálcio, gerando um potencial de longa duração, que, por conseguinte, aumenta a liberação de dopamina (PLANETA, 2006). Pesquisas recentes sugerem que os receptores NMDA podem estar envolvidos na plasticidade neuronal, no desenvolvimento de tolerância, na sensibilização dos receptores e na dependência física (JAIN *et al.*, 2008). Uma vez estimulando os receptores $\alpha 4\beta 2$ dos neurônios GABAérgicos da área tegmental ventral, ocorre um aumento na liberação de GABA, como resultado, ocorre a inibição da atividade dopaminérgica. Contudo, a influência inibitória é eliminada uma vez que os receptores nicotínicos sofrem rápida dessensibilização (PLANETA, 2006).

Além dos efeitos supracitados, o uso crônico de cigarro é capaz de reduzir a atividade da enzima monoamino-oxidase (MAO) A e B, o que promove um aumento nos níveis de dopamina e noradrenalina na fenda sináptica, contribuindo para os efeitos aditivos desta substância (BENOWITZ, 2008a).

O uso crônico do tabaco leva à neuro-adaptação dos receptores nicotínicos, fator que pode contribuir para a tolerância e para a síndrome de abstinência da substância (BENOWITZ, 2008b, PLANETA, 2006). A neuro-adaptação está associada a dessensibilização, inativação com conseqüente aumento na quantidade de receptores nicotínicos no cérebro (BENOWITZ, 2008b, PLANETA, 2006). Acredita-se que a dessensibilização desempenha um papel importante no desenvolvimento de tolerância e dependência à nicotina (BENOWITZ, 2008a). Além do uso crônico do cigarro levar à neuro-adaptação, o mesmo pode aumentar a expressão gênica e a síntese de proteínas, com a geração de novas conexões sinápticas (BENOWITZ, 2008b).

Ao parar de fumar, a ausência de nicotina resulta em liberação anormal de dopamina e de outros neurotransmissores (BENOWITZ, 2008b), levando aos sintomas de abstinência, que incluem irritabilidade, ansiedade, problemas de relacionamento, frustração ou raiva, humor depressivo, dificuldade de concentração, diminuição da frequência cardíaca, insônia, constipação, aumento do apetite e inquietação (BENOWITZ, 2008a; BENOWITZ, 2008b, HATSUKAMI *et al.*, 2008).

1.4.1.3 Efeitos da nicotina sobre os diversos sistemas

1.4.1.3.1 Sistema Nervoso Periférico (SNP)

Inicialmente, a ação da nicotina consiste em estimulação transitória seguida de depressão persistente do gânglio autônomo. Baixas doses de nicotina estimulam as células ganglionares diretamente e facilitam o impulso nervoso, porém, altas concentrações de nicotina geram um estímulo seguido por um bloqueio da transmissão (TAYLOR, 2006).

Na junção neuromuscular, a nicotina apresenta ação semelhante. Na exposição crônica, a nicotina induz bloqueio muscular devido à dessensibilização dos receptores (TAYLOR, 2006).

1.4.1.3.2 Sistema Nervoso Central (SNC)

A nicotina é responsável por estimular o SNC (TAYLOR, 2006). Ela provoca aumento de diversos neurotransmissores como dito anteriormente. Baixas doses de nicotina provocam leve analgesia, enquanto doses mais elevadas, como ocorre na intoxicação, pode ocasionar tremores e convulsão (TAYLOR, 2006).

1.4.1.3.3 Sistema Cardiovascular

A estimulação do sistema cardiovascular provocada pela nicotina é resultado da estimulação dos gânglios simpáticos bem como da estimulação da medula adrenal, o que provoca um aumento na liberação de catecolaminas. Adicionalmente, a nicotina estimula quimiorreceptores presentes nos corpos aórticos e carotídeos, elevando a pressão arterial por vasoconstrição e taquicardia (TAYLOR, 2006).

1.4.1.3.4 Trato gastrointestinal

A combinação da ativação tanto do sistema nervoso autônomo simpático quanto parassimpático mediado pela estimulação da nicotina nestes dois sistemas resulta em aumento da atividade motora do intestino. O ato de fumar pode provocar náuseas, vômitos e, ocasionalmente, diarreia em pessoas que nunca tiveram este hábito (TAYLOR, 2006).

1.4.1.3.5 Glândulas exócrinas

A nicotina provoca estimulação inicial das secreções tanto salivares quando bronquiais, seguido de inibição (TAYLOR, 2006).

1.5 QUANTIFICAÇÃO DO TABAGISMO

A cotinina, um metabólito da nicotina, tem sido amplamente utilizada como um marcador biológico de exposição ao tabaco, podendo ser mensurada na saliva, urina ou no plasma (ETZEL, 1990). Apesar da cotinina ser um ótimo marcador da exposição ao cigarro (BENOWITZ, 1996), *pack-years of smoking* é um método muito utilizado para este propósito, pela facilidade de obtenção e redução do potencial viés de aferição. *Pack-years of smoking* tem sido utilizado desde o início dos anos 70

para estimar o risco cumulativo do tabagismo sobre o organismo (BERNAARDS *et al.*, 2001). Este método avalia a carga tabágica ao qual o indivíduo está exposto, pois leva em conta toda a história do hábito tabágico do indivíduo (BERNAARDS *et al.*, 2001).

Pack-years of smoking pode ser calculado da seguinte maneira: número de carteiras fumadas por dia (1 carteira = 20 cigarros) multiplicado pelo número de anos que o indivíduo fuma esta quantidade (BERNAARDS *et al.*, 2001).

2 HORMÔNIOS SEXUAIS MASCULINOS

2.1 REGULAÇÃO HORMONAL DAS FUNÇÕES REPRODUTIVAS

Sabe-se que o sistema endócrino desempenha um papel muito importante na regulação de várias funções do organismo, entre elas o metabolismo energético, crescimento e desenvolvimento, equilíbrio eletrolítico, reprodução, inclusive alterações comportamentais (GUYTON *et al.*, 2002; MATFIN *et al.*, 2004). Para isso, o organismo libera hormônios sintetizados por glândulas, que realizam suas ações em células-alvo específicas (MATFIN *et al.*, 2004).

Na reprodução, tanto masculina quanto feminina, a regulação hormonal das funções reprodutivas é feita pelos esteróides sexuais produzidos nas gônadas, pelos peptídeos hipotalâmicos e pelas gonadotropinas da adeno-hipófise (RANG *et al.*, 2003).

Resumidamente, o hipotálamo é responsável por secretar o hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), que, ao atingir a adeno-hipófise, estimulará a liberação de gonadotrofinas (hormônios luteinizante-LH e folículo-estimulante-FSH). Além de secretar o GnRH, o hipotálamo libera activina, que é capaz de estimular a adeno-hipófise a liberar especificadamente FSH. Tanto o FSH quanto o LH são liberados na corrente sangüínea e, ao atingirem os testículos, os mesmos ativarão receptores específicos nas células de Sertoli e Leydig, respectivamente. O FSH, ao estimular as células de Sertoli, promove a maturação dos espermatozóides, pois estimula a produção de nutrientes e proteínas necessárias à maturação dos mesmos. Já o LH, por sua vez, é responsável por estimular as células de Leydig a sintetizar testosterona (GUYTON *et al.*, 2002; RANG *et al.*, 2003; WINTERS *et al.*,

2004). Este eixo é controlado por um sistema de feedback negativo, explicado posteriormente com maiores detalhes.

2.1.1 GnRH

O GnRH, responsável pela estimulação da adeno-hipófise para liberar LH e FSH, é um decapeptídeo sintetizado pelos corpos celulares dos neurônios hipotalâmicos, é liberado na eminência mediana do hipotálamo e é transportado para a adeno-hipófise através do sistema porta hipotalâmico-hipofisário, onde realizará sua função (GNESSI *et al.*, 1997; SWERDLOFF *et al.*, 2004; GUYTON *et al.*, 2002, WINTERS *et al.*, 2004).

O GnRH estimula as células gonadotróficas da adeno-hipófise ao atuar em receptores acoplados à proteína G presentes na membrana destas células. Após a ativação do receptor, ocorre a estimulação de uma proteína G, que ativa a fosfolipase C, convertendo o difosfato de fosfatidilinositol (PIP_2) em trifosfato de inositol (IP_3). O IP_3 rapidamente eleva a concentração de cálcio intracelular, canais de cálcio voltagem-dependentes se abrem permitindo, assim, entrada de mais cálcio na célula. O aumento do cálcio intracelular é responsável pela liberação de LH e FSH pelas células gonadotróficas (GNESSI *et al.*, 1997; GUYTON *et al.*, 2002; WINTERS *et al.*, 2004). Além disso, poderá ocorrer a formação de diacilglicerol (DAG), que ativa uma proteína-quinase C (PKC), fosforilando diversas proteínas, provocando, então, uma resposta celular (GUYTON *et al.*, 2002).

A secreção de GnRH é regulada por impulsos neuronais provenientes de centros cognitivos e sensoriais do cérebro, assim como por esteróides sexuais, hormônios peptídicos, como a prolactina, e por diversas substâncias como o

glutamato, GABA, neuropeptídeo Y, opióides, dopamina, noradrenalina, adenosina, monofosfato cíclico (AMPC) e óxido nítrico (WINTERS *et al.*, 2004).

O GnRH é liberado de modo pulsátil pelo hipotálamo (GUYTON *et al.*, 2002; WINTERS *et al.*, 2004), e a frequência do seu pulso é controlado pelo “gerador de pulso do GnRH”, termo utilizado para descrever os neurônios de GnRH altamente sincronizados do hipotálamo médio basal (HMB) (WINTERS *et al.*, 2004). Acredita-se que a secreção pulsátil do GnRH seja essencial para manter a responsividade gonadotrófica, evitando a dessensibilização e infra-regulação dos receptores de GnRH presentes na adeno-hipófise (ANDERSON *et al.*, 2002; GUYTON *et al.*, 2002).

2.1.2 HORMÔNIOS GONADOTRÓPICOS

O LH e o FSH são denominados hormônios gonadotrópicos devido à suas ações sobre as gônadas (PARKER *et al.*, 2003). Esses hormônios são glicopeptídeos formados por duas subunidades que são ligadas uma a outra por interações não-covalentes: a subunidade α , que é comum aos dois hormônios, e a subunidade β distinta, que é a que confere especificidade a ação hormonal (MOLITCH, 2001; PARKER *et al.*, 2003, WINTERS *et al.*, 2004).

A secreção tanto de LH quanto de FSH ocorre devido ao aumento do cálcio intracelular conseqüente da estimulação pulsátil do GnRH sob as células gonadotróficas da adeno-hipófise, como descrito anteriormente (SWERDLOFF *et al.*, 2004; GUYTON *et al.*, 2002, WINTERS *et al.*, 2004).

Tanto o LH quanto o FSH fazem seus efeitos ao estimular um receptor ligado à proteína G estimulatória, estimulando a adenilil-ciclase a catalisar a conversão de trifosfato de adenosina (ATP) em AMPC (GUYTON *et al.*, 2002; PARKER *et al.*,

2003). Este, por sua vez, ativa uma proteína-quinase dependente de AMPc, que fosforila proteínas específicas, produzindo uma resposta celular (GUYTON *et al.*, 2002). No caso do LH, o mesmo estimula as células de Leydig no testículo a sintetizar testosterona e o FSH, por sua vez, estimula as células de Sertoli promovendo a maturação dos espermatozoides (GUYTON *et al.*, 2002; PARKER *et al.*, 2003; RANG *et al.*, 2003; WINTERS *et al.*, 2004).

2.1.3 TESTOSTERONA

2.1.3.1 Síntese

A testosterona (figura 5) é o principal androgênio secretado pelo homem (ANDERSON *et al.*, 2002; GUYTON *et al.*, 2002; SNYDER, 2003). Este hormônio é um composto esteroidal, sintetizado e secretado pelas células de Leydig, sob o controle estimulatório do LH (ANDERSON *et al.*, 2002, BHASIN,2008; DONG *et al.*, 2004; GNESSI *et al.*, 1997).



Figura 5– Estrutura química da Testosterona (Adaptado de BRAUNSTEIN, GD. Testes In: GARDNER, DG; SHOBACK, D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed: McGraw-Hill Companies, Inc, 2007, p.473).

O LH estimula a produção de testosterona ao se ligar em receptores acoplados à proteína G presentes na membrana das células de Leydig, aumentando, assim, a atividade da adenilato ciclase, a qual, por sua vez, ativa a

cascata do AMPc (PAYNE *et al.*, 1995; WINTERS *et al.*, 2004). O aumento do AMPc gera a cascata de eventos que leva a biossíntese de testosterona (DONG *et al.*, 2004). A formação de AMPc ativa a proteína-quinase A (PKA), resultando no aumento da síntese de proteína e na formação da proteína de regulação aguda da esteroidogênese (StAR - *steroidogenic acute regulatory protein*) (COOKE, 1999), importante para a transferência do colesterol para o interior da membrana mitocondrial (DOMENICE *et al.*, 2002; PAYNE *et al.*, 1995). Embora o LH também ative a cascata da fosfolipase C, não há evidências de que esta via seja essencial para a produção de testosterona (BHASIN, 2008).

O LH atua nas células de Leydig tanto de forma aguda quanto crônica (DONG *et al.*, 2004; MIDZAK *et al.*, 2008) e ambos os efeitos do LH sob a síntese de testosterona são mediados pelo aumento do AMPc (PAYNE *et al.*, 1995). A resposta aguda é rápida e envolve o processo de entrada do colesterol para o interior da membrana mitocondrial, onde a primeira enzima fará sua ação no processo de biossíntese do hormônio (PAYNE *et al.*, 1995). Além de estimular o aumento do AMPc, o LH aumenta o cálcio intracelular a partir de reservas celulares, aumenta a síntese do ácido araquidônico (AA) e seus metabólitos a partir da membrana fosfolipídica e aumenta o efluxo de íons cloreto (DONG *et al.*, 2004). Todos esses mecanismos estão envolvidos no processo de biossíntese de testosterona (COOKE *et al.*, 1992) (figura 6). Já a estimulação crônica das células de Leydig pelo LH ou pelo AMPc é extremamente importante para a expressão de enzimas necessárias para a síntese de testosterona a partir do colesterol (DONG *et al.*, 2004; PAYNE *et al.*, 1995, MIDZAK *et al.*, 2008).

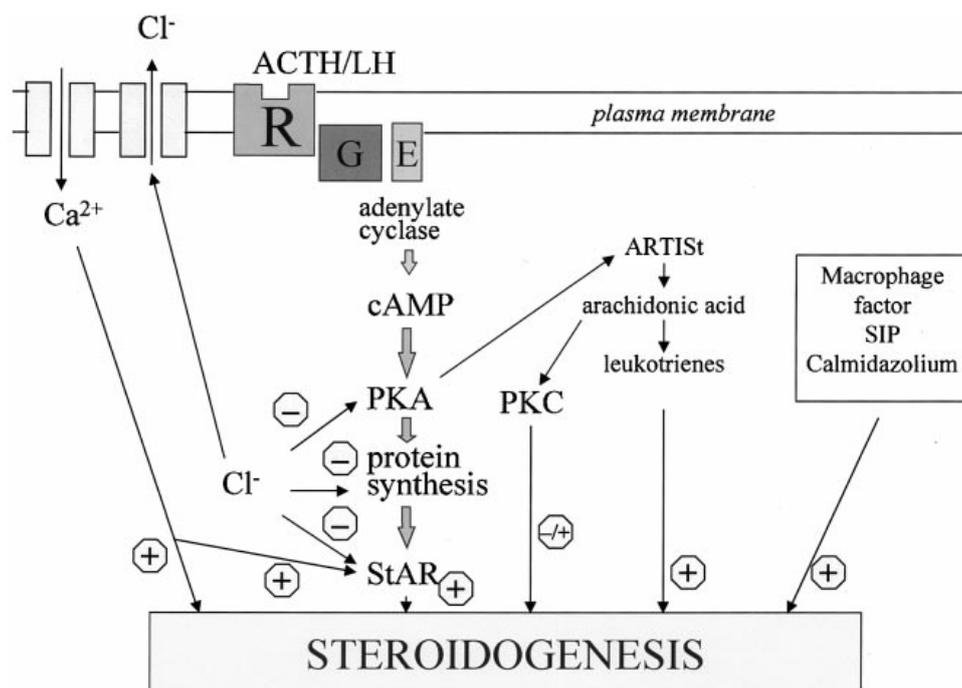


Figura 6– Mecanismos de controle da androgênese (COOKE, BA. Signal transduction involving cyclic AMP-dependent and cyclic AMP-independent mechanisms in the control of steroidogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology* 151 (1999) 25–35).

A testosterona é sintetizada a partir do colesterol, através de uma série de reações enzimáticas citocromo-P450 e desidrogenase dependentes (PAYNE *et al.*, 1995).

Após a entrada do colesterol na membrana mitocondrial, o mesmo é convertido a pregnenolona, reação catalizada pela enzima citocromo-P450 de clivagem da cadeia lateral do colesterol (P450_{scc}) (DOMENICE *et al.*, 2002; DONG *et al.*, 2004; PAYNE *et al.*, 1995; WINTERS *et al.*, 2004). A conversão do colesterol em pregnenolona envolve três reações: 20 α -hidroxilação, 22-hidroxilação e quebra da cadeia lateral do colesterol, todas mediadas pelo P450_{scc} (DOMENICE *et al.*, 2002). A pregnenolona deixa a mitocôndria e sofre desidrogenação na posição 3 β , pela enzima 3 β -hidroxiesteróide desidrogenase (3 β -HSD), formando progesterona (DOMENICE *et al.*, 2002; PAYNE *et al.*, 1995). Além da pregnenolona, a 3 β -HSD também regula a conversão do 17-OH-pregnenolona, dehidroepiandrosterona, androstenediol, em progesterona, 17-OH progesterona, androstenediona e

testosterona, respectivamente (DOMENICE *et al.*, 2002; PAYNE *et al.*, 1995). A próxima reação é catalizada por outra enzima P450 específica, a 17- α hidroxilase/G17-20 liase (P450c17) (DOMENICE *et al.*, 2002), onde a pregnenolona e a progesterona são hidroxiladas na posição 17- α , formando 17-hidroxipregnenolona e a 17-hidroxiprogesteronona, respectivamente (DOMENICE *et al.*, 2002). Além disso, esta enzima cliva a ponte de carbono 17,20, convertendo a 17-hidroxipregnenolona em dehidroepiandrosterona e a 17-hidroxiprogesteronona em androstenediona (DOMENICE *et al.*, 2002). A última reação é a redução da dehidroepiandrosterona em androstenediol e a androstenediona em testosterona, feita por uma enzima do retículo endoplasmático, a 17-ceto-redutase (DOMENICE *et al.*, 2002; PAYNE *et al.*, 1995). A etapa limitante da velocidade de síntese da testosterona é a conversão do colesterol em pregnenolona (BHASIN, 2008) (figura 7).

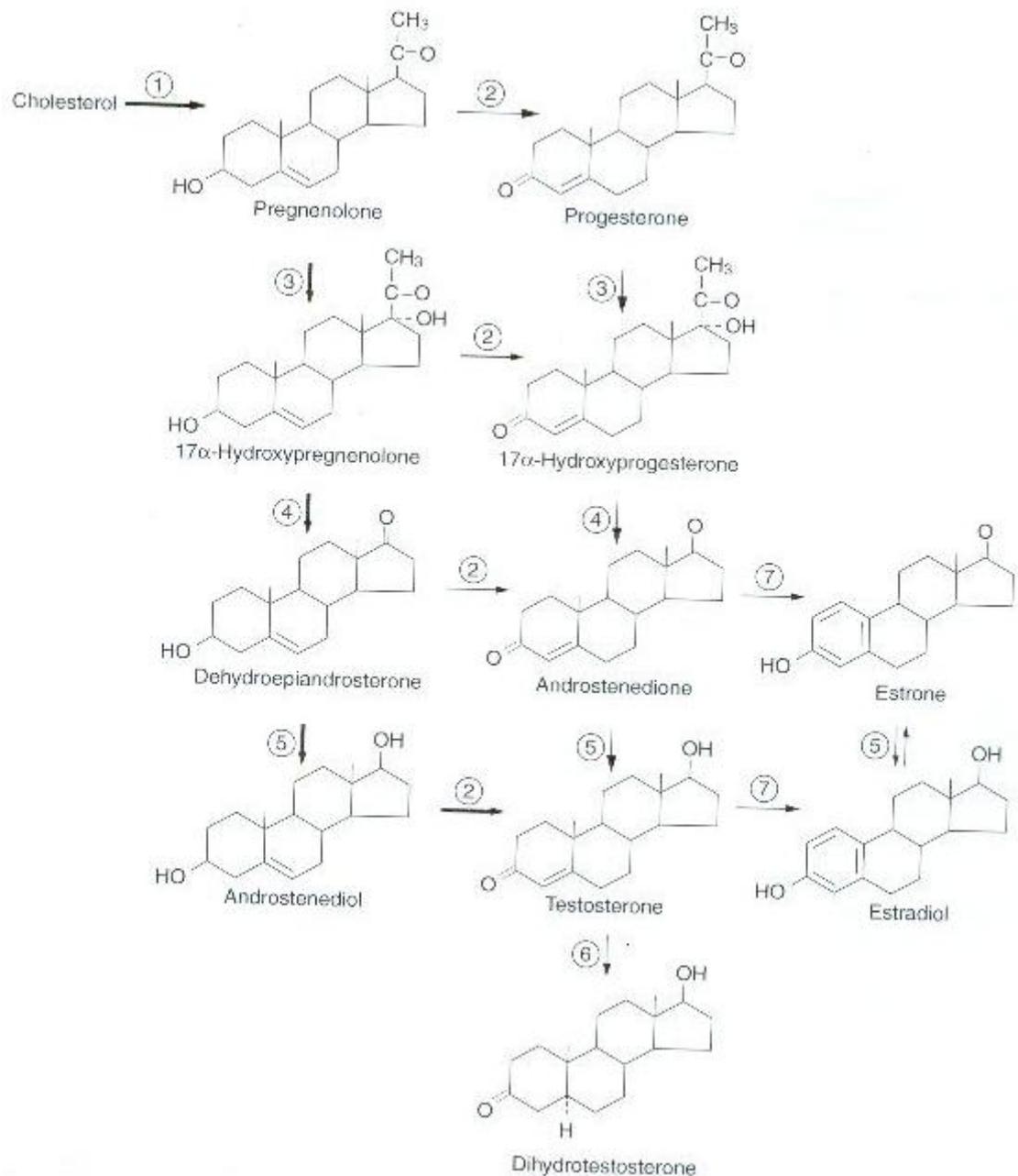


Figura 7– Biossíntese de testosterona em humanos (BRAUNSTEIN, GD. Testes In: GARDNER, DG; SHOBACK, D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed: McGraw-Hill Companies, Inc, 2007, p.473).

2.1.3.2 Metabolismo

Cerca de 95% da testosterona circulante é derivada dos testículos (BHASIN, 2008). Depois de sintetizada, a testosterona sai da célula de Leydig por difusão passiva, entra nos capilares sanguíneos testiculares, que estão muito próximos às células de Leydig, e entra na circulação sistêmica (DONG *et al.*, 2004). Uma vez na

circulação sistêmica, a testosterona se liga à proteínas plasmáticas ou se encontra na forma livre (DONG *et al.*, 2004). A testosterona se liga fortemente a uma β -globulina, denominada globulina de ligação dos hormônios sexuais (SHBG) e se liga fracamente à albumina plasmática (GUYTON *et al.*, 2002; SWERDLOFF *et al.*, 2004). A porção livre da testosterona mais a porção fracamente ligada à albumina corresponde à fração biologicamente ativa da testosterona (testosterona biodisponível) (DONG *et al.*, 2004; KAPOOR *et al.*, 2005; KAUFMAN *et al.*, 2005; SWERDLOFF *et al.*, 2004; VERMEULEN *et al.*, 1999), sendo que ela se difunde livremente dos capilares sangüíneos para as células para exercer suas atividades biológicas (DONG *et al.*, 2004). Acredita-se que a fração da testosterona fortemente associada ao SHBG atue como um reservatório para o hormônio (DONG *et al.*, 2004).

A testosterona é metabolizada principalmente no fígado, embora possa sofrer metabolização nos tecidos periféricos, principalmente na próstata e na pele (BHASIN, 2008)

A testosterona é convertida em estradiol (E2) pela enzima aromatase (P450arom), que é feita de forma irreversível (ANDERSON *et al.*, 2002; SNYDER, 2003). Outra via metabólica importante é a conversão da testosterona em diidrotestosterona (DHT), feita pela enzima 5α -redutase (DONG *et al.*, 2004, SNYDER, 2003). A DHT é um andrógeno mais potente que a testosterona (DONG *et al.*, 2004), pois a DHT possui maior afinidade ao receptor e produz respostas com maior eficiência (SNYDER, 2003) (figura 8).

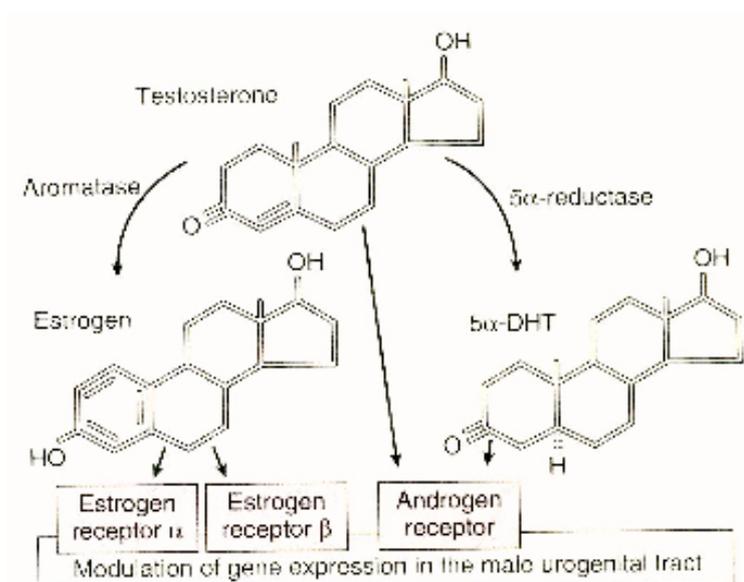


Figura 8– Conversão da testosterona em metabólitos ativos (SWERDLOFF, RS; WANG C. In Goldman *et al*: Cecil – Textbook of Medicine. 22nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2004. p.1473, com permissão).

A fração da testosterona que não foi convertida em DHT, a deidroepiandrosterona (DEA) ou a E2, é metabolizada a glicuronídeos ou sulfatos, que são excretados pelo rim e pela bile hepática (BHASIN, 2008; GUYTON *et al.*, 2002).

2.1.3.3 Mecanismo de Ação

A maioria dos efeitos exercidos pela testosterona deve-se ao aumento da síntese de proteínas nas células-alvo (GUYTON *et al.*, 2002). Tanto a testosterona, quanto a DHT ligam-se a proteína receptora plasmática, que migra para o núcleo da célula, ligando-se à proteína nuclear e induzindo o processo de transcrição DNA-RNA (GUYTON *et al.*, 2002), como ilustrado na figura 9. Além disso, a testosterona pode ser convertida em E2, que, quando ligada a receptores de estrogênio (α e β), produz respostas estrogênicas características (SWERDLOFF *et al.*, 2004).

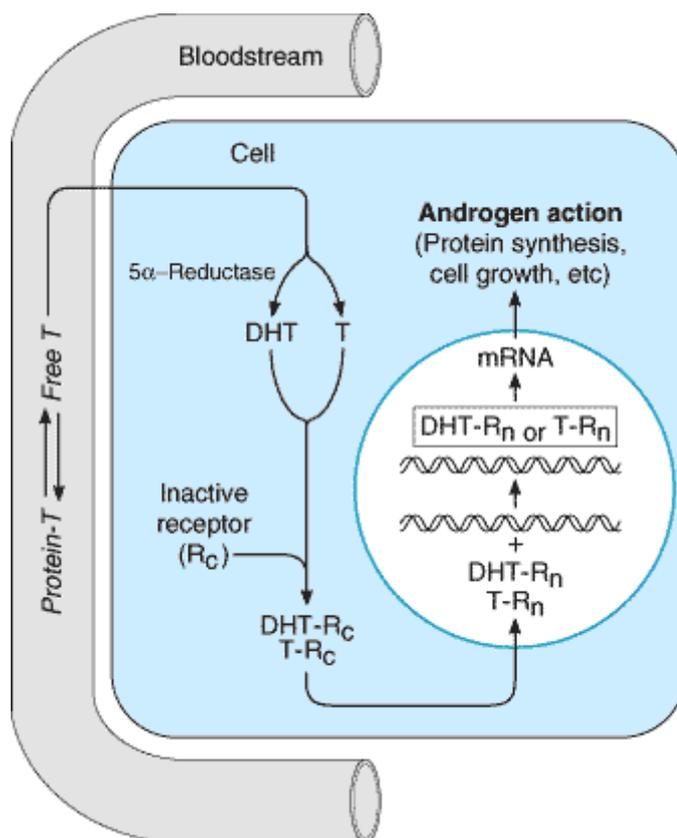


Figura 9- Mecanismo de ação da testosterona (BRAUNSTEIN, GD. Testes In: GARDNER, DG; SHOBACK, D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed: McGraw-Hill Companies, Inc, 2007, p.474)

2.1.3.4 Efeitos da Testosterona no organismo

A) *In útero*: por volta da 8^a semana de gestação, os testículos fetais começam a secretar testosterona, a qual estimula os ductos Wolffianos adjacentes a se diferenciar em epidídimo, ductos deferentes e vesículas seminais (SNYDER, 2003).

A testosterona, quando convertida em DHT, promove o desenvolvimento da genitália externa masculina, ou seja, pênis, bolsa escrotal e próstata (SNYDER, 2003).

B) *Puberdade*: a idade da puberdade masculina varia de 12 a 17 anos. Nesse período, ocorre a produção de esperma maduro, ocorre o crescimento de pêlos, aumenta a massa e a força muscular, ocorre o crescimento das epífises ósseas,

aumenta a eritropoiese, aumenta a libido e a voz se torna mais grave (SNYDER, 2003).

C) *Idade Adulta*: nesta fase, ocorre o aparecimento gradual da calvície. É nesta época também que os níveis de testosterona apresentam um significado clínico: a hiperplasia benigna de próstata (SNYDER, 2003). Acredita-se que esta patologia esteja associada aos níveis de DHT (SNYDER, 2003).

D) *Senescência*: nesta época, ocorre uma queda nos níveis de andrógenos. Com isso, a vitalidade pode diminuir, ocorre redução da massa muscular, além de alterar a função sexual e diminuir a densidade mineral óssea (SNYDER, 2003).

2.1.4 REGULAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-GÔNADAS

O controle hormonal do sistema reprodutor masculino é realizado por um sistema de retro-alimentação (*feedback*) negativo, como demonstrado na figura 10, tendo como estímulo inicial o aumento das concentrações plasmáticas de testosterona, que atuará no hipotálamo, modulando a secreção de GnRH, ou atuará diretamente na adeno-hipófise, controlando, assim, a secreção de LH e FSH (ANDERSON *et al.*, 2002; RANG *et al.*, 2003).

O estradiol, seja por aromatização da testosterona ou por ação direta, possui um papel importante neste sistema de retro-alimentação negativo, ao controlar a liberação das gonadotrofinas (ANDERSON *et al.*, 2002; WINTERS *et al.*, 2004).

O FSH, ao estimular as células de Sertoli, aumenta a síntese de inibina B, que também participa do sistema de retro-alimentação negativo, atuando sob a adeno-hipófise, diminuindo a liberação específica de FSH (ANDERSON *et al.*, 2002). A inibina B controla a secreção de FSH ao regular a expressão do gene do FSH β (WINTERS *et al.*, 2004).

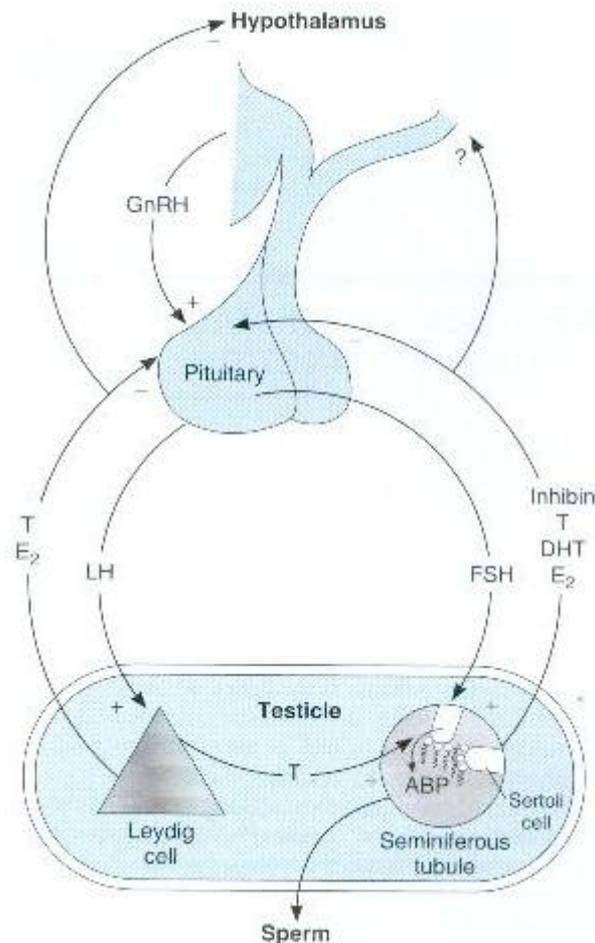


Figura 10 - Controle hormonal do eixo hipotalâmico-hipofisário-gônadas (BRAUNSTEIN, GD. Testes In: GARDNER, DG; SHOBACK, D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed: McGraw-Hill Companies, Inc, 2007, p.475)

Devido a esta regulação específica do FSH, a inibina B plasmática e os níveis plasmáticos de FSH são inversamente relacionados em homens normais (WINTERS *et al.*, 2004).

2.1.5 POSSÍVEIS FATORES QUE ALTERAM OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE TESTOSTERONA

Vários são os fatores que podem alterar os níveis de testosterona, entre eles a idade, irradiação, distúrbios congênitos, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), obesidade, alcoolismo, cirrose hepática, alguns medicamentos, além de traumas e doenças

sistêmicas, tais como insuficiência renal, desnutrição severa e fibrose cística (SEFTEL, 2006; SWERDLOFF *et al.*, 2004).

Há diversos estudos na literatura demonstrando que a idade diminui a concentração sérica de testosterona na circulação sangüínea (FELDMAN *et al.*, 2002; HARMAN *et al.*, 2001; HERMANN *et al.*, 2000; LEIFKE *et al.*, 2000). Além de diminuir a concentração de testosterona, a idade também interfere negativamente nos níveis de testosterona livre e de testosterona biodisponível, diminuindo suas concentrações (KAUFMAN *et al.*, 2005). Sabe-se também que a idade aumenta os níveis de SHBG (FELDMAN *et al.*, 2002, KAUFMAN *et al.*, 2005), aumenta os níveis de FSH e de LH, além de aumentar os níveis de prolactina na circulação sistêmica (FELDMAN *et al.*, 2002).

Há três hipóteses para as mudanças que ocorrem nos níveis de testosterona nos homens relacionados à idade: 1º) ocorre a diminuição da capacidade de secreção da célula de Leydig; 2º) há uma regulação neuroendócrina da célula de Leydig falha, com aparente prejuízos no mecanismo de retro-alimentação ; 3º) há um aumento da capacidade de ligação da SHBG (KAUFMAN *et al.*, 2005).

As síndromes metabólicas em geral e o hipogonadismo estão freqüentemente associados (SANTEUSANIO, 2008). Segundo estudo realizado por Laaksonen *et al.* (2005), homens com síndrome metabólica têm de 2,6 a 2,9 vezes mais chances de desenvolver hipogonadismo, independente de fatores de confusão, como tabagismo e consumo alcoólico (LAAKSONEN *et al.*, 2005). De acordo com Seftel (2006), 33% dos homens com DM2 tem hipogonadismo (SEFTEL, 2006). Além disso, um estudo realizado por Rhoden *et al.* (2005), demonstrou que baixos níveis de testosterona livre estão diretamente associados com DM2, enquanto os níveis de testosterona

parecem estar fortemente associados com a obesidade e com a adiposidade central mais do que com a DM2 (RHODEN *et al.*, 2005).

Ainda no que se refere à síndrome metabólica em geral, há diversos estudos na literatura apontando que a obesidade está fortemente associada com alterações nos níveis de andrógenos (ABATE *et al.*, 2002; HAFFNER *et al.*, 1993). No estudo realizado por Abate *et al.* (2002), com 57 pacientes (24 controles e 33 com diabetes), encontrou-se uma forte associação entre os níveis de SHBG com a obesidade, além de constatarem que a testosterona livre está inversamente correlacionada com a obesidade e que, a medida que aumenta a gordura corporal, os níveis de testosterona livre diminuem (ABATE *et al.*, 2002). Estes resultados corroboram com estudos anteriores, publicados em 1990 e 1993, os quais encontraram correlação inversamente significativa entre o índice de massa corporal (IMC) e os valores de testosterona, testosterona livre e testosterona biodisponível, além da correlação inversa entre relação cintura-quadril (adiposidade visceral) e os níveis de testosterona livre (HAFFNER *et al.*, 1993; ZUMOFF *et al.*, 1990).

O álcool também afeta os níveis de andrógenos circulantes. Esta substância pode interferir no correto funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, ao alterar o funcionamento de qualquer um de seus componentes (EMANUELE *et al.*, 1998; EMANUELE *et al.*, 2001). Nas gônadas, o álcool pode causar dano nas células de Leydig. Na hipófise, o álcool pode diminuir a síntese de LH e FSH e no hipotálamo, o álcool é capaz de interferir na síntese de hormônios hipotalâmicos (EMANUELE *et al.*, 1998). Embora se saiba que o álcool interfere em cada uma das três partes do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, os mecanismos pelos quais o álcool provoca danos celulares permanecem uma incógnita (EMANUELE *et al.*, 1998; EMANUELE *et al.*, 2001). Porém, sugere-se que os danos provocados pelo uso do

álcool ocorram devido ao metabolismo do álcool, ao dano celular provocado pelo mesmo e a outras reações hormonais associadas ao consumo desta droga (EMANUELE *et al.*,2001).

A hiperprolactinemia é uma causa bem estabelecida de infertilidade tanto em homens quanto em mulheres (GRATTAN *et al.*,2007). A hiperprolactinemia causa hipogonadismo com supressão de LH, FSH e conseqüentemente, diminuição nos níveis de testosterona (MOLITCH, 2001), pois inibe a secreção de GnRH, suprimindo, assim, a liberação de gonadotrofinas (GRATTAN *et al.*,2007; SWERDLOFF *et al.*, 2004).

Doenças crônicas, tais como câncer, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, artrite reumatóide, doença renal crônica, doença hepática crônica, entre outras, estão associados a níveis inferiores de testosterona nos indivíduos acometidos (KALYANI *et al.*,2007).

Recentes pesquisas indicam que a neoplasia prostática ou um produto intermediário produzido por esta neoplasia pode eventualmente exercer um efeito sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, levando a uma redução dos níveis séricos de testosterona (MADERSBACHER *et al.*,2002). Um estudo realizado por Morgentaler A e Rhoden EL, em 2006, com 345 homens hipogonádicos com níveis de antígeno prostático específico (PSA) inferiores a 4,0 ng/mL, demonstrou que há um aumento no risco de câncer de próstata associado com reduções severas nos níveis séricos de testosterona total (MORGENTALER *et al.*,2006). Um recente estudo realizado por Rhoden *et al.* (2008) demonstrou que a baixa razão testosterona/PSA é um preditor independente de câncer de próstata em homens hipogonádicos que possuem valores de PSA iguais ou inferiores a 4,0 ng/mL (RHODEN *et al.*, 2008). Este mesmo estudo concluiu que valores de

testosterona/PSA inferiores a 1,8 estavam associados a um risco 3 vezes maior de câncer de próstata (RHODEN *et al.*, 2008).

Além de todos os fatores descritos acima, há uma gama de medicamentos que também podem alterar as concentrações hormonais. Entre estes medicamentos, podemos citar a nandrolona e o estanozolol, que são esteróides anabólicos, a ciproterona, a flutamida, a finasterida, que são antiandrogênicos, o cetoconazol, que apesar de ser um antifúngico, em altas doses é capaz de inibir a esteroidogênese, entre outros tantos fármacos, como agentes quimioterápicos bem como algumas toxinas (RANG *et al.*, 2003; SWERDLOFF *et al.*, 2004).

3 TABAGISMO VERSUS HORMÔNIOS SEXUAIS MASCULINOS

Há diversos estudos na literatura avaliando a influência do tabagismo nos níveis de hormônios sexuais masculinos (ATTIA *et al.*,1989; BARRETT-CONNOR *et al.*,1987; BRIGGS, 1973; CORONA *et al.*,2005; DAI *et al.*,1988; ENGLISH *et al.*,2001; FIELD *et al.*,1994; HARMAN *et al.*,2001; HAUTANEN *et al.*,1993;; LINDHOLM *et al.*,1982; PONHOLZER *et al.*,2005 RICHTHOFF *et al.*,2008; SAADAT, 2008; SHAARAWY *et al.*,1982; SVARTBERG *et al.*,2007; TRUMMER *et al.*,2002; WU *et al.*,2008), porém os resultados são contraditórios.

Alguns destes estudos demonstraram valores subnormais (BRIGGS, 1973; SHAARAWY *et al.*,1982), similares (ATTIA *et al.*,1989; BARRETT-CONNOR *et al.*,1987; HARMAN *et al.*,2001; HAUTANEN *et al.*,1993; RICHTHOFF *et al.*,2008; LINDHOLM *et al.*,1982; SAADAT, 2008), ou elevados (CORONA *et al.*,2005; DAI *et al.*,1988; ENGLISH *et al.*,2001; FIELD *et al.*,1994; PONHOLZER *et al.*,2005; SVARTBERG *et al.*,2007; TRUMMER *et al.*,2002; WU *et al.*,2008) de testosterona em fumantes quando comparados com não-fumantes. Contradições semelhantes podem ser vistas em estudos que avaliaram a influência do hábito de fumar nos níveis séricos de testosterona livre, de testosterona biodisponível e de gonadotrofinas (CORONA *et al.*,2005; DAI *et al.*,1988; ENGLISH *et al.*,2001; HARMAN *et al.*,2001; PONHOLZER *et al.*,2005; RICHTHOFF *et al.*,2008; SAADAT, 2008; SHAARAWY *et al.*,1982; SVARTBERG *et al.*,2007; TRUMMER *et al.*,2002; WU *et al.*,2008).

Harman *et al.* (2001) avaliaram 890 homens entre 22 e 91 anos de idade e não encontraram diferenças estatisticamente significativas nos valores de testosterona de fumantes e não-fumantes, mesmo ajustando os dados para possíveis fatores de confusão, tais como ingestão de álcool, diabetes mellitus,

doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral (HARMAN *et al.*,2001). Seguindo a mesma linha, em um estudo mais antigo, Barrett-Connor *et al.* (1987) estudaram 590 homens sem doenças cardiovasculares e também encontraram níveis similares de testosterona entre fumantes e não-fumantes, mesmo ajustando os dados para idade e IMC (BARRETT-CONNOR *et al.*,1987). Da mesma forma, Saadat (2008) também relatou níveis semelhantes de testosterona em fumantes e não-fumantes.

Entretanto, alguns estudos encontraram valores elevados de testosterona em fumantes quando comparados com não-fumantes (CORONA *et al.*,2005; DAI *et al.*,1988; ENGLISH *et al.*,2001; FIELD *et al.*,1994; PONHOLZER *et al.*,2005; SVARTBERG *et al.*,2007; TRUMMER *et al.*,2002; WU *et al.*,2008). Em um estudo realizado por Trummer *et al.* (2003) com 1104 homens, os níveis de testosterona estavam elevados nos fumantes quando comparados com não-fumantes e ex-fumantes (TRUMMER *et al.*,2002). Do mesmo modo, Corona *et al.* (2005), ao avaliarem 1150 homens oriundos de uma clínica de disfunção sexual, encontraram níveis de testosterona superiores nos fumantes, mesmo após o ajuste da idade e/ou IMC (CORONA *et al.*,2005).

English *et al.* (2001), em seu estudo realizado com 50 homens saudáveis, 25 fumantes e 25 não-fumantes, encontraram um aumento nas concentrações de testosterona e de testosterona livre nos fumantes, não encontrando, porém, diferença significativa nos níveis de testosterona biodisponível entre os grupos (ENGLISH *et al.*,2001). De acordo com o mesmo trabalho, English *et al.* (2001) observaram um aumento nos níveis de SHBG em fumantes, sugerindo que as alterações encontradas nos níveis de testosterona são devido a alterações nos níveis de SHBG (ENGLISH *et al.*,2001).

No que tange à influência do tabagismo nos níveis de testosterona livre, os resultados dos estudos existentes também são controversos. Em um grande estudo com 1241 homens realizado por Field e colaboradores, em 1994, não houve diferenças estatisticamente significativas nos níveis de testosterona livre em fumantes e não-fumantes (FIELD *et al.*, 1994). Já no estudo realizado por Ponholzer e colaboradores, em 2005, com 375 homens, os níveis de testosterona livre estavam aumentados nos fumantes (PONHOLZER *et al.*, 2005).

Há, até o presente momento, apenas 2 estudos publicados na literatura em relação aos níveis de testosterona biodisponível em fumantes e não-fumantes, e ambos não encontraram diferenças nos níveis deste andrógeno entre os grupos, mesmo ajustando para idade e IMC (ENGLISH *et al.*, 2001; FIELD *et al.*, 1994).

Embora haja algumas teorias explicando como o tabagismo possivelmente altera os níveis de andrógenos, os mecanismos ainda permanecem obscuros (TRUMMER *et al.*, 2002).

Briggs, em 1973, sugere que a biossíntese de testosterona esteja diminuída em fumantes devido à inibição das hidroxilases presentes na célula de Leydig provocada pelo monóxido de carbono (BRIGGS, 1973), pois o mesmo inibe as reações citocromo P450 dependentes, necessárias para a síntese de andrógenos (FUXE *et al.*, 1989). Acredita-se também que a nicotina iniba a secreção de LH indiretamente, ao aumentar a liberação de dopamina, a qual, por sua vez, inibe a secreção de GnRH (FUXE *et al.*, 1989). Ademais, Kimura *et al.* (2004) sugerem que, em cultura de placóide olfativa embrionária de rato, a nicotina estimula a liberação de GABA, o qual inibirá a secreção de GnRH (KIMURA *et al.*, 2004). Não apenas a nicotina aumenta a liberação de dopamina e de GABA, como também aumenta a liberação de opióides (POMERLEAU; 1998), os quais também inibem a secreção de

GnRH (YEN *et al.*, 1999). Ao inibirmos a secreção de LH, as células de Leydig perdem sua habilidade de secretar testosterona (DONG *et al.*, 2004). Ainda, há evidências de que o tabagismo provoque degeneração das células de Leydig, bem como diminuição em número destas células, levando, portanto, a uma diminuição nos níveis de testosterona (YARDIMCI *et al.*, 1997). Contudo, o efeito do tabagismo nas células de Leydig não necessariamente reflete alterações nos níveis de testosterona circulante (YARDIMCI *et al.*, 1997).

Embora haja diversos artigos na literatura documentando os possíveis efeitos negativos do cigarro na produção de andrógenos (BRIGGS, 1973; FUXE *et al.*, 1989; KIMURA *et al.*, 2004; POMERLEAU, 1998; YARDIMCI *et al.*, 1997), alguns autores sugerem que o tabagismo aumenta os níveis de testosterona (CORONA *et al.*, 2005; KRSMANOVIC *et al.*, 1998; MENDELSON *et al.*, 2003; WU *et al.*, 2008). Mendelson e colaboradores (2003) demonstraram um aumento na liberação de LH após a exposição aguda de cigarros com alto teor de nicotina em pacientes já dependentes de nicotina (MENDELSON *et al.*, 2003). Além disso, Krsmanovic *et al.* (1998) sugerem que a estimulação dos receptores nicotínicos presentes nos neurônios hipotalâmicos estimulam a liberação de GnRH (KRSMANOVIC *et al.*, 1998). Por outro lado, Wu e colaboradores (2008), em um recente estudo, demonstraram que o aparente aumento dos níveis de testosterona total em fumantes se deva, primariamente, ao aumento de SHBG encontrado neste grupo, ocorrendo também um aumento compensatório de LH (WU *et al.*, 2008).

Portanto, apesar do cigarro afetar diversas estruturas do organismo, o(s) mecanismo(s) pelo(s) qual(is) o tabagismo possivelmente afeta os níveis de hormônios sexuais masculinos não está(ão) completamente elucidado(s). O assunto tem repercutido cada vez mais na literatura mundial, uma vez que o hábito de fumar

é altamente freqüente entre os homens e, em uma era de progressiva longevidade masculina, faz-se necessário compreender possíveis fatores externos que venham a alterar os níveis de andrógenos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, N., *et al.* Sex Steroid Hormones, Upper Body Obesity, And Insulin Resistance. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.87, nº10, p.4522-4527, 2002.

ANDERSEN, I., *et al.* Obesity and Sexual Dysfunction in Younger Danish Men. **Journal of Sexual Medicine**. V.5, nº 9, p. 2053-2060, 2008.

ANDERSON, RA; BAIRD, DT. Male Contraception. **Endocrine Reviews**, v.23, nº6, p.735-762, 2002.

ATTIA, AM., *et al.* Cigarette-Smoking And Male Reproduction. **Archives of Andrology**, v.23, p.45-49, 1989.

BALFOUR, DJK; FAGERSTRÖM, KO. Pharmacology of nicotine and its therapeutic use in smoking cessation and neurodegenerative disorders. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 72, nº1, p. 51-81, 1996.

BARRETT-CONNOR, E; KHAW, KT. Cigarette-Smoking And Increased Endogenous Estrogen-Levels In Men. **American Journal of Epidemiology**, v.126, p.187-192, 1987.

BENOWITZ, NL. Neurobiology of nicotine addiction: implications for smoking cessation treatment. **The American Journal of Medicine**, v.121, nº 4A, p. S3 – S10, 2008a.

BENOWITZ, NL. Clinical pharmacology of nicotine: implications for understanding, preventing, and treating tobacco addiction. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 83, nº 4, p.531-541, abr.2008b.

BENOWITZ, NL. Cotinine as a Biomarker of Environmental Tobacco Smoke Exposure. **Epidemiologic Reviews**, v. 18, nº 2, 188-204, 1996.

BERNAARDS, CM., *et al.* Is Calculating Pack-Years Retrospectively A Valid Method To Estimate Life-Time Tobacco Smoking? A Comparison Between Prospectively Calculated Pack-Years And Retrospectively Calculated Pack-Years. **Addiction**, v.96, p.1653-1661, 2001.

BHASIN, S. Disorders of the Testes and the Male Reproductive Tract. In: KRONENBERG, HM.; MELMED, S; POLONSKY, KS; LARSEN, RP (org). **Williams Textbook of Endocrinology**, 11th ed, Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2008.

BORIO, G. **The tobacco timeline** ©2001-200. Disponível em: <http://www.tobacco.org/resources/history/tobacco_history.html> Acesso em: 21 out.2008.

BRAUNSTEIN, GD. Testes. In: GARDNER, D; SHOBACK, S. **Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology**, 8^a ed. McGraw-Hill Companies Inc, 2007.

BRIGGS, MH. Cigarette-Smoking And Infertility In Men. **The Medical Journal of Australia**, v.1, p.616-617, 1973.

CHEW, KK., *et al.* Is the Relationship Between Cigarette Smoking and Male Erectile Dysfunction Independent of Cardiovascular Disease? Findings from a Population-Based Cross-Sectional Study. **Journal of Sexual Medicine**. [Epub ahead of print], 2008.

COOKE, BA. Signal transduction involving cyclic AMP-dependent and cyclic AMP-independent mechanisms in the control of steroidogenesis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 151, p.25-35, 1999.

COOKE, BA., *et al.* Control of steroidogenesis in Leydig cells. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v.43, nº 5, p.445-449, 1992.

CORONA, G., *et al.* Psychobiological Correlates Of Smoking In Patients With Erectile Dysfunction. **International Journal of Impotence Research**, v.17, p.527-534, 2005.

DAI, WS., *et al.* Cigarette-Smoking And Serum Sex-Hormones In Men. **American Journal of Epidemiology**, v.128, p.796-805, 1988.

DAUDT, AW. Aspectos epidemiológicos do tabagismo. In: FOCCHI, GRA; MALBERGIER, A; PIMENTA FERREIRA, M (Eds). **Tabagismo: dos fundamentos ao tratamento**. São Paulo: Lemos editorial, 2006.

DOMENICE, S., *et al.* Aspectos Moleculares da Determinação e Diferenciação Sexual. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.46, nº4, p.433-443, 2002.

DONG, Q; HARDY, MP. Leydig cell function in man. In: WINTERS, SJ (ed). **Male hypogonadism, Basic, Clinical and Therapeutic principles**. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2004. p.23-43.

EMANUELE MA; EMANUELE N. Alcohol And The Male Reproductive System. **Alcohol Research & Health: the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism**, v.25, p. 282-287, 2001.

EMANUELE MA; EMANUELE NV. Alcohol's effects on male reproduction. **Alcohol Health and research world**, v. 22, nº3, p. 195-201, 1998.

ENGLISH, KM., *et al.* Effect Of Cigarette Smoking On Levels Of Bioavailable Testosterone In Healthy Men. **Clinical Science**, v.100, p.661-665, 2001.

ETZEL, RA. A review of the use of saliva cotinine as a marker of tobacco smoke exposure. **Preventive Medicine**, v. 19, n.2, p.190-197, mar. 1990.

EZZATI, M; LOPEZ, AD. Regional, disease specific patterns of smoking-attributable mortality in 2000. **Tobacco Control**, v. 13, p.388-395, 2004.

FELDMAN, HA., *et al.* Age Trends In The Level Of Serum Testosterone And Other Hormones In Middle-Aged Men: Longitudinal Results From The Massachusetts Male

Aging Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.87, p. 589-598, 2002.

FIELD, AE., *et al.* The Relation Of Smoking, Age, Relative Weight, And Dietary-Intake To Serum Adrenal-Steroids, Sex-Hormones, And Sex Hormone-Binding Globulin In Middle-Aged Men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 79, nº5, p.1310-1316, 1994.

FUXE, K., *et al.* Neuro-Endocrine Actions Of Nicotine And Of Exposure To Cigarette-Smoke - Medical Implications. **Psychoneuroendocrinology**, v.14, p.19-41,1989.

GNESSI, L; FABBRI, A; SPERA, G. Gonadal Peptides as Mediators of Development and Functional Control of the Testis: An Integrated System with Hormones and Local Environment. **Endocrine Reviews**, v.18, nº4, p.541-609, 1997.

GRATTAN, DR., *et al.* Prolactin Regulation Of Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons To Suppress Luteinizing Hormone Secretion In Mice. **Endocrinology**, v.148, nº 9, p. 4344-4351, 2007.

GUINDON, GE; BOISCLAIR, D. **Past, current and future trends in tobacco use.** The World Bank, mar. 2003. 62p. Disponível em: <<http://www1.worldbank.org/tobacco/publications.asp>> . Acesso em:07 out. 2008.

GUYTON, AC; HALL, JE. **Tratado de Fisiologia Médica.** 10ªed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan S.A., 2002. 973p.

HAFFNER, SM., *et al.* Obesity, Body-Fat Distribution And Sex-Hormones In Men. **International Journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the international association for the study of obesity**, v.17, p.643-649, 1993.

HARMAN, SM., *et al.* Longitudinal Effects Of Aging On Serum Total And Free Testosterone Levels In Healthy Men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.86, p.724-731, 2001.

HATSUKAMI, DK; STEAD, LF; GUPTA, P. Tobacco addiction. **Lancet**, v. 371, p. 2027-2038, 2008.

HAUTANEN, A., *et al.* Cigarette-Smoking Is Associated With Elevated Adrenal Androgen Response To Adrenocorticotropin. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v.46, p. 245-251, 1993.

HERMANN, M., *et al.* Aging of the male reproductive system. **Experimental Gerontology**, v. 35, p.1267-1279, 2000.

HOFFMANN, D., *et al.* The Less Harmful Cigarette: A Controversial Issue. A Tribute to Ernst L. Wynder. **Chemical Research in Toxicology**, v.14, p.767-790, 2001.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Ministério da Saúde. **Inquérito Domiciliar sobre Comportamentos de Risco e Morbidade Referida de Doenças**

e **Agravos Não Transmissíveis.** 2003. 30p. Disponível em: <www.inca.gov.br/inquerito/>. Acesso em: 01 out. 2008.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Ministério da Saúde. **Estimativa 2008 – Incidência de Câncer no Brasil.** 2007. 94p. Disponível em: <www.inca.gov.br/estimativa/2008/>. Acesso em: 10 jun. 2008.

JAIN, R., *et al.* The Role of NMDA receptor antagonists in nicotine tolerance, sensitization and physical dependence: a preclinical review. **Yonsei Medical Journal**, v. 49, nº2, p. 175-188, 2008.

KALYANI, RR; GAVINI, S; DOBS, AS. Male Hypogonadism in Systemic Disease. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v.36, p.333-348, 2007.

KANDEEL, FR., *et al.* Male Sexual Function and Its Disorders: Physiology, Pathophysiology, Clinical Investigation, and Treatment. **Endocrine Reviews**,v.22, n.3, p.342-388, 2001.

KANG, HY., *et al.* Economic burden of smoking in Korea. **Tobacco Control**, v. 12, p.37-44, 2003.

KAPOOR, D; JONES, TH. Smoking and hormones in health and endocrine disorders. **European Journal of Endocrinology**, v.152, nº4, p. 491-499, Abril 2005.

KAUFMAN, JM.; VERMEULEN, A. The Decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. **Endocrine reviews**, v.26, nº6, p. 833-876, 2005.

KIMURA, F., *et al.* Nicotine Inhibition Of Pulsatile GnRH Secretion Is Mediated By GABA(A) Receptor System In The Cultured Rat Embryonic Olfactory Placode. **Psychoneuroendocrinology**, v.29, p.749-756, 2004.

KRSMANOVIC, LZ., *et al.* Muscarinic Regulation Of Intracellular Signaling And Neurosecretion In Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. **Endocrinology**, v.139, nº 10, p.4037-4043, 1998.

LAAKSONEN, DE., *et al.* The Metabolic Syndrome and Smoking in Relation to Hypogonadism in Middle-Aged Men: A Prospective Cohort Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.90, n.2, p.712-719, 2005.

LEIFKE, E., *et al.* Age-Related Changes Of Serum Sex Hormones, Insulin-Like Growth Factor-1 And Sex-Hormone Binding Globulin Levels In Men: Cross-Sectional Data From A Healthy Male Cohort. **Clinical Endocrinology**, v.53, p.689-695, 2000.

LEITE, MC. Aspectos históricos do tabagismo (e seus subprodutos). In: FOCCHI, GRA; MALBERGIER, A; PIMENTA FERREIRA, M (Eds). **Tabagismo: dos fundamentos ao tratamento.** São Paulo: Lemos editorial, 2006.

LINDHOLM, J., *et al.* Coronary Risk-Factors And Plasma Sex-Hormones. **The American Journal of Medicine**, v73, p. 648-651, 1982.

MACKAY, J; ERIKSEN, M. **The Tobacco Atlas**. Genova, World Health Organization, 2002. 126p.

MADERSBACHER, S., *et al.* Impact of radical prostatectomy and turp on the hypothalamic-pituitary-gonadal hormone axis. **Adult urology**, v. 60, nº5, p.869-874, 2002.

MATFIN, G; GUVEN, S; KUENZI, JA., Mecanismos de controle endócrino. In: PORTH, CA. **Fisiopatologia**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan S.A. 2004. p.863-874.

MATHERS, CD; LONCAR, D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. **PLoS Medicine**, v.3, nº11, p. 2011-2030, nov. 2006.

MAX, W., *et al.* The economic burden of smoking in California. **Tobacco Control**, v. 13, p. 264-267, 2004.

MENDELSON, JH., *et al.* Effects Of Intravenous Cocaine And Cigarette Smoking On Luteinizing Hormone, Testosterone, And Prolactin In Men. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.307, nº1, p.339-348, 2003.

MENEZES, AMB., *et al.* Chronic obstructive pulmonary disease in Five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. **Lancet**, v. 366, p.1875-1881, 2005.

MIDZAK, AS., *et al.* Leydig cell aging and the mechanisms of reduced testosterone synthesis. **Molecular and Cellular Endocrinology** (2008), doi: 10.1016/j.mce.2008.07.016 – *in press*.

MOLITCH, ME. In: GOLDMAN, Lee; BENNETTE, J. Claude. **Cecil – Tratado de Medicina Interna**. 21ªed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. vol 2. p.1332-1363.

MORGENTALER, A.; RHODEN, EL. Prevalence of prostate cancer among hypogonadal men with prostate-specific antigen levels of 4.0ng/mL or less. **Urology**, v.68, nº6, p.1263-1267, 2006.

NATALI, A., *et al.* Heavy smoking is an important risk factor for erectile dysfunction in young men. **Internacional Journal of Impotence Research**, p.1-4, 2004.

NEUBAUER, S., *et al.* Mortality, morbidity and costs attributable to smoking in Germany: update and a 10-year comparison. **Tobacco Control**, v. 15, p.464-471, 2006.

NIH STATE-OF-THE-SCIENCE PANEL. National Institutes of Health State-of-theScience conference statement: tobacco use: prevention, cessation, and control. **Annals of Internal Medicine**, v.145, p.839-844, 2006.

PARKER, KL; SCHIMMER, BP. Hormônios Hipofisários e seus fatores de liberação hipotalâmicos. In: **Goodman & Gilman's: As bases farmacológicas da terapêutica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003. p.1159-1174.

PASQUALOTTO, FF., *et al.* Cigarette smoking is related to a decrease in semen volume in a population of fertile men. **BJU International**, v.97, n°2, p. 324-326, fev. 2005.

PAYNE, AH; YOUNGBLOOD, GL. Regulation of expression of steroidogenic enzymes in Leydig Cells. **Biology of reproduction**, v. 52, p. 217-225, 1995.

PLANETA, CS. Farmacologia e neurobiologia do tabagismo. In: FOCCHI, GRA; MALBERGIER, A; PIMENTA FERREIRA, M (Eds). **Tabagismo: dos fundamentos ao tratamento**. São Paulo: Lemos editorial, 2006.

POMERLEAU, OF. Endogenous opioids and smoking: A review of progress and problems. **Psychoneuroendocrinology**, v.23, p.115-130, 1998.

PONHOLZER, A., *et al.* Relationship between testosterone serum levels and lifestyle in aging men. **Aging Male**, v.8, p.190-193, 2005.

PORTUGAL, GS.; GOULD, TJ. Genetic variability in nicotinic acetylcholine receptors and nicotine addiction: Converging evidence from human and animal research. **Behavioural Brain Research**, v. 193; p. 1-16; 2008.

PROCTOR, RN. Tobacco and the global lung cancer epidemic. **Nature Reviews Cancer**, v. 1, p.82-86, out. 2001.

PROCTOR, N. The global smoking epidemic: a history and status report. **Clinical Lung Cancer**, v. 5, n° 6, p.371-376, 2004.

RAMLAU-HANSEN CH., *et al.* Is Smoking A Risk Factor For Decreased Semen Quality? A Cross-Sectional Analysis. **Human Reproduction**, v.22, n°1, p. 188-196,2007.

RANG, HP. *et al.* **Pharmacology**. 5th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier Science, 2003, 797p.

REHM, J. *et al.* The Costs of alcohol, illegal drugs, and tobacco in Canada, 2002. **Journal of Studies on alcohol and drugs**, v. 68, p.886-895, 2007.

RICHTHOFF, J. *et al.* Association Between Tobacco Exposure And Reproductive Parameters In Adolescent Males. **International Journal of Andrology**, v.31, p.31-39, 2008.

RHODEN, EL., *et al.* Diabetes Mellitus Is Associated With Subnormal Serum Levels Of Free Testosterone In Men. **BJU Internacional**, v.96, p. 867-870, 2005.

RHODEN, EL., *et al.* The ratio of serum testosterone-to-prostate specific antigen predicts prostate cancer in hypogonadal men. **The Journal of Urology**, v.179, n° 5, p.1741-1745, 2008.

ROHRMANN, S., *et al.* Smoking and Risk of fatal prostate cancer in a prospective U.S. study. **Urology**, v.69, n° 4, p.721-725, 2007.

SAADAT, M. Serum levels of testosterone and gonadotropins with respect to smoking status and genetic polymorphism of *GSTT1*. **Molecular Biology Reports**. 2008. Doi 10.1007/s11033-008-9319-z.

SANTEUSANIO, F. Hypogonadism and the metabolic syndrome in men: na association to be considered. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v.18, p.253-255, 2008.

SEFTEL, AD. Male hypogonadism. Part 1: Epidemiology of hypogonadism. **Internacional Journal of Impotence Research**, n.18, p.115-120, 2006.

SHAARAWY, M.; MAHMOUD, KZ. Endocrine Profile And Semen Characteristics In Male Smokers. **Fertility Sterility**, v.38, p.255-257, 1982.

SHAFEY, O; DOLWICK, S; GUINDON, GE. (eds). **Tobacco Control Country profiles**. Atlanta-GA, American Cancer Society, 2003.

SINGLE, E., *et al.* The economic costs of alcohol, tobacco and illicit drugs in Canada, 1992. **Addiction**, v.93, n° 7, p. 991-1006, 1998.

SNYDER, PJ. Androgênios. In: **Goodman & Gilman's: As bases farmacológicas da terapêutica**. 10^a ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003. p.1231-1240.

SOFIKITIS N., *et al.* Effects Of Smoking On Testicular Function, Semen Quality And Sperm Fertilizing-Capacity. **The Journal of Urology**, v.154, p.1030-1034, set.1995.

SVARTBERG, J; JORDE, R. Endogenous Testosterone Levels And Smoking In Men. The Fifth Tromso Study. **International Journal of Andrology**, v.30, p.137-143, 2007.

SUNG, HY., *et al.* Economic burden of smoking in China, 2000. **Tobacco Control**, v. 15, Supl. I, p.i5-i11, 2006.

SWERDLOFF, RS; WANG, C. In: GOLDMAN, L; AUSIELLO, D. **Cecil – Textbook of Medicine**. 22nded. Philadelphia, Pennsylvania: Saunders Elsevier, 2004. p.1472 - 1483.

TAYLOR, P. Agents acting at the neuromuscular junction and autonomic ganglia. In: BRUNTON, Laurence L; LAZO, John S; PARKER, Keith L (eds). **Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics**, 11th ed. McGraw-Hill Companies, 2006.

TELES, AG., *et al.* Prevalence, Severity, and Risk Factors for Erectile Dysfunction in a Representative Sample of 3,548 Portuguese Men Aged 40 to 69 Years Attending Primary Healthcare Centers: Results of the Portuguese Erectile Dysfunction Study. **Journal of Sexual Medicine**.v.5 n°6, p.1317-1324, 2008.

THE PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Smoking and infertility. **Fertility and Sterility**, v.81, n°4, p. 1181-1186, Abril, 2004.

TRUMMER, H., *et al.* The Impact Of Cigarette Smoking On Human Semen Parameters And Hormones. **Human Reproduction**, v.17, nº6, p.1554-1559, 2002.

U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. **The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2004. Disponível em: <<http://www.surgeongeneral.gov/library/smokingconsequences/index.html>> . Acesso em: 15 out. 2008.

VERMEULEN, A; VERDONCK, L; KAUFMAN, JM. A Critical Evaluation Of Simple Methods For The Estimation Of Free Testosterone In Serum. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 84, p. 3666-3672, 1999.

VINE, MF. Smoking And Male Reproduction: A Review. **International Journal of Andrology**, v.19, p. 323-337,1996.

WILL, JC., *et al.* Cigarette smoking and diabetes mellitus: evidence of a positive association from a large prospective cohort study. **International Journal of Epidemiology**, v.30, p.540-546, 2001.

WILLI, C., *et al.* Active Smoking and the risk of type 2 diabetes. **JAMA**, v.298, nº22, p.2654-2664, dez.,2007.

WINTERS, SJ; DALKIN, AC. Neuroendocrine control of testicular function. In: WINTERS, Stephen J (ed). **Male hypogonadism, Basic, Clinical and Therapeutic principles**. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2004. p.1-21.

WOOTEN JB, CHOUCANE S, MCGRATH TE. Tobacco Smoke Constituents Affecting Oxidative Stress. In: Halliwell BB, Poulsen HE, ed. **Cigarette Smoke And Oxidative Stress**. Springer: Berlin, 2006, 6pp.

WORLD BANK. **Curbing the epidemic**, nº1, p.1-122, 1999. Disponível em: <<http://www.usaid.gov/policy/ads/200/tobacco.pdf>>. Acesso em: 19 out.2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Health Statistics 2008**. WHO Press: Geneva 2008a, 18pp. Disponível em: <<http://www.who.int/whosis/whostat/en/>>. Acesso em: 24 set. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **MPOWER- WHO report on the global tobacco epidemic, 2008**. WHO Press: Geneva 2008b, p.329. Disponível em: <<http://www.who.int/tobacco/mpower/en/>>. Acesso em: 25 set. 2008.

WU, FCW., *et al.* Hypothalamic-Pituitary-Testicular Axis Disruptions In Older Men Are Differentially Linked To Age And Modifiable Risk Factors: The European Male Aging Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.93, nº7, p.2737-2745, 2008.

YARDIMCI, S., *et al.* Long-Term Effects Of Cigarette-Smoke Exposure On Plasma

Testosterone, Luteinizing Hormone And Follicle-Stimulating Hormone Levels In Male Rats. **British Journal of Urology**, v.79, p.66-69, 1997.

YEN, SSC; JAFFE, RB; BARBIERI, RL. **Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management**. 4th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999.

ZUMOFF, B., *et al.* Plasma-Free And Non-Sex-Hormone-Binding-Globulin-Bound Testosterone Are Decreased In Obese Men In Proportion To Their Degree Of Obesity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.71, p. 929-931, 1990.

JUSTIFICATIVA

Devido à alta prevalência de fumantes do sexo masculino, há uma crescente preocupação sobre os danos causados pelo tabagismo na função reprodutiva e sexual masculina.

Apesar da publicação de diversos estudos a respeito do referido tema, a influência do tabagismo nos níveis de hormônios sexuais masculinos continua sendo um assunto sem uma resposta definitiva, pois a influência do hábito tabágico sobre os níveis de andrógenos não está bem estabelecida. Além disso, em uma era de progressiva longevidade masculina e, por outro lado, associada a um progressivo declínio hormonal fisiológico idade-relacionado e fatores de risco indefinidos, a compreensão de potenciais fatores externos é de extrema relevância.

Apesar dos efeitos conhecidos do hábito tabágico sobre diversas condições clínicas, a mesma no que se refere à função hormonal masculina carece de uma melhor compreensão. Neste contexto, a carência de estudos mais específicos sobre a carga tabágica, bem como nas diversas frações dos andrógenos masculinos, justificam estudos mais elaborados para esclarecer estas relações. Especificamente, até o momento, poucos estudos publicados na literatura mundial avaliaram a influência do tabagismo sobre os níveis de testosterona biodisponível - fração biologicamente ativa da testosterona, sendo, portanto, mais específica para compreender efeitos andrógeno-dependentes.

Neste contexto, o presente trabalho é justificado pelas inúmeras indefinições relacionadas e discutidas acima; aspectos que sensivelmente necessitam ser melhor compreendidos.

OBJETIVO DO ESTUDO

Avaliar a influência do hábito de fumar sobre os níveis séricos dos hormônios sexuais masculinos.

ARTIGO ORIGINAL EM PORTUGUÊS

Avaliação dos efeitos do tabagismo nos níveis séricos de testosterona em homens adultos*

Graziele Halmenschlager¹

Simone Rossetto²

Gustavo Müller Lara³

Ernani Luis Rhoden⁴

* Do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA -) – Porto Alegre, RS, Brasil e do Centro Universitário Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Biomedicina – Novo Hamburgo, RS, Brasil.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) – Porto Alegre, RS, Brasil

² MS, Centro Universitário Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Biomedicina – Novo Hamburgo, RS, Brasil

³ MS, Centro Universitário Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Biomedicina – Novo Hamburgo, RS, Brasil

⁴ MD, PhD, Professor de Urologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) – Porto Alegre, RS, Brasil - CNPq-Conselho Nacional de Pesquisa- Pesquisador nível 2

Autor para correspondência:

Graziele Halmenschlager
Rua Dona Rafaela, 319 apto 501
CEP: 92020-030
Canoas, RS, Brasil
E-mail: grazihal@gmail.com
Telefone: 55 51- 34772474
FAX: 55 51 33333144

RESUMO

Introdução: O tabagismo é altamente prevalente entre os homens. Muitos estudos já avaliaram os efeitos do tabagismo sobre os níveis de hormônios sexuais masculinos, porém, os achados permanecem controversos.

Objetivo: Avaliar a influência do tabagismo nos níveis de Testosterona Total (TT), Testosterona Livre (FT), Testosterona Biodisponível (BT), globulina de ligação dos hormônios sexuais (SHBG), hormônios luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH).

Métodos: Um total de 255 homens (90 fumantes e 165 não-fumantes), com idade entre 30-70 anos, foram avaliados. Peso e altura foram mensurados e o índice de massa corporal (IMC) foi calculado. Ainda, a circunferência abdominal e a circunferência do quadril foram avaliadas e a relação cintura/quadril (RCQ) foi calculada. Coletas de sangue em jejum foram realizadas para determinação da glicemia, do colesterol total, do HDL colesterol, dos triglicerídeos, da albumina, da prolactina (PRL), da TT, do SHBG, do LH e do FSH. Os valores do LDL colesterol foram calculados de acordo com a equação de Friedwald e os valores de FT e de BT foram calculados a partir da TT, do SHBG e da albumina. Para fins de significância estatística considerou-se um $P \leq 0.05$.

Principais fatores de desfecho: A influência do tabagismo sobre os níveis de TT, FT e de BT.

Resultados: Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada nos valores médios de TT ($p=0.580$), FT ($p=0.869$), BT ($p=0.933$), SHBG ($p=0.279$), LH ($p=0.573$) e FSH ($p=0.693$) nos diferentes grupos de *pack-years* quando comparados com não-fumantes. Além disso, após regressão logística, nenhuma associação foi encontrada entre a intensidade do tabagismo e um aumento de risco para níveis subnormais dos hormônios avaliados e do SHBG.

Conclusão: No presente estudo, fumantes e não-fumantes tiveram valores similares de andrógenos, de gonadotrofinas e de SHBG. Porém, faz-se necessário padronizar o *pack-years of smoking* a fim de elucidar a influência do tabagismo sobre os níveis de hormônios sexuais, bem como para minimizar as diferenças entre estudos e para confirmar nossos resultados.

Palavras-chave: Testosterona, testosterona biodisponível, hipogonadismo, tabagismo, tabaco

INTRODUÇÃO

Apesar dos efeitos nocivos provocados pelo uso do tabaco, o tabagismo continua sendo altamente prevalente. Estimativas indicam que aproximadamente, 22% dos adultos sejam fumantes e que 36% dos homens estejam nesta categoria [1]. Devido à alta prevalência do uso do cigarro entre os homens, há uma preocupação crescente sobre os efeitos do tabagismo na função reprodutiva masculina [2].

Além de aumentar o risco para ocorrência de disfunção erétil [3-5], há evidências na literatura sugerindo que o cigarro reduz a qualidade do esperma por diminuir a concentração de espermatozóides, por diminuir a motilidade dos mesmos e por aumentar a porcentagem de espermatozóides anormais [2,6]. De acordo com Vine (1996) [2], o tabagismo pode afetar a qualidade do esperma ao influenciar os níveis hormonais.

O impacto do tabagismo sobre os níveis de hormônios sexuais masculinos tem sido amplamente estudado. Porém, os resultados destes estudos são controversos. Alguns estudos demonstravam níveis baixos [7,8], similares [9-15], ou altos [16-23] de testosterona total (TT) em fumantes comparados com não fumantes. Contradições similares podem ser encontradas em estudos que avaliaram a influência do tabagismo nos níveis de testosterona livre (FT), testosterona biodisponível (BT) e de gonadotrofinas [8, 13-16, 18-23]. Estes resultados conflitantes podem ser explicados por diferenças entre os estudos, tais como diferentes metodologias empregadas, controle inadequado de potenciais fatores de confusão [2], e, especialmente, devido a erro na quantificação da exposição ao tabaco, o que leva a um potencial viés de aferição.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo é avaliar a influência do tabagismo (expresso como *pack-years of smoking*, o qual é um método comum usado para estimar a carga tabágica exposta do indivíduo [24]) sobre os níveis séricos de TT, FT, BT, SHBG e hormônios luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH).

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e população de estudo

Este estudo transversal foi conduzido no período de Abril de 2007 a Maio de 2008 em um centro de atendimento primário em saúde nas cidades de Canoas e Nova Santa Rita, Rio Grande do Sul, Brasil. Um mil trezentos e cinquenta e seis homens que procuraram o Centro de Saúde, por distintas razões, foram convidados a participar do presente estudo. Os critérios de exclusão para participar da corrente avaliação incluíam a presença de Diabete Melito (DM), de cirrose ou de qualquer outra doença hepática, assim como a presença de neoplasia de qualquer tipo, cirurgia pélvica devido a câncer de próstata [25], uso de medicamentos tais como estabilizantes do humor, psicotrópicos ou ansiolíticos, bem como medicamentos que afetam o sistema endócrino, uso de qualquer tipo de droga de abuso (exceto cigarro e álcool), analfabetos e indivíduos com obesidade Grau II e III, classificados de acordo com o *National Institutes of Health Guidelines* [26].

Do total de homens entrevistados, 255 homens preenchem os critérios para participar do estudo e a idade dos mesmos variou entre 30 e 70 anos. O projeto do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFSCPA) e todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Exame clínico

Os dados antropométricos do presente estudo foram realizados por um único profissional da área da saúde treinado (GH). O peso (kg) foi verificado com uma balança calibrada (Filizola®, São Paulo, Brasil) e a altura foi obtida em um estadiômetro profissional. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo-se o peso (kg) pela altura ao quadrado (m^2). A circunferência abdominal e a circunferência do quadril foram avaliadas com uma fita métrica flexível. A relação cintura/quadril (RCQ) foi calculada dividindo-se a cintura (cm) pelo quadril (cm). Toda antropometria foi realizada nos indivíduos em pé e vestindo roupas claras, sem sapatos.

Após um período de 10 minutos de descanso, a pressão arterial foi aferida 2 vezes no braço direito, por profissional do Serviço de Enfermagem, com um esfigmomanômetro e a média das aferições foram utilizadas.

Possíveis fatores de confusão:

Alguns possíveis fatores de confusão associados à alteração hormonal, tais como idade [13], glicemia em jejum [27,28], IMC (obesidade geral) [29,30], RCQ (adiposidade central) [27,29] e níveis séricos de prolactina [31,32] foram investigados e incluídos na análise.

Hábito tabágico

O hábito tabágico foi avaliado através de um questionário. Foi considerado fumante todo voluntário que mantinha este hábito por pelo menos 6 meses e foi considerado não-fumante todo voluntário que nunca havia fumado bem como todo voluntário que tivesse parado de fumar há pelo menos 6 meses da presente avaliação [33]. Os fumantes responderam a um questionário com perguntas referentes ao número de cigarros que fumavam por dia e por quanto tempo mantinham esta quantia. Baseado nas respostas, ao multiplicar o número de carteiras fumadas por dia (1 carteira = 20 cigarros) pelo número de anos fumados, obteve-se o valor conhecido como *pack-years of smoking*. Este dado tem sido considerado um excelente método para estimar a carga tabágica ao qual o indivíduo está exposto e leva em consideração toda a história de tabagismo do voluntário [24]. O *pack-years* foi subdividido em quartis de *pack-years*, considerando ≤ 10 ; 11-26; 27-44; ≥ 45 *pack-years*. Acredita-se que ao categorizar retrospectivamente os *pack-years* calculados, diminui-se o viés de aferição [24]. Contudo, a fim de verificar os efeitos temporários do tabagismo sobre os níveis hormonais, os fumantes também foram agrupados de acordo com o número de cigarros fumados por dia (1-10; 11-20; ≥ 20).

Exames laboratoriais

As coletas de sangue foram realizadas entre 7:00 e 11:00 horas da manhã [34], com os pacientes em jejum de 12 horas para determinação da glicemia, do colesterol total, do HDL colesterol, dos triglicerídeos, da albumina, da PRL, da TT, do SHBG, do LH e do FSH.

A albumina, a glicose, o colesterol total e os triglicerídeos foram obtidos através do método colorimétrico enzimático (Labquest – Labtest Diagnostic, MG, Brasil) e o HDL-colesterol foi obtido através do método colorimétrico enzimático com precipitação (Labquest – Labtest Diagnostic, MG, Brasil). Os valores de LDL-colesterol foram calculados pela equação de Friedwalt [35], para valores de triglicerídeos ≤ 400 mg/dL.

Os valores de SHBG, LH e FSH foram determinados por ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente (Immulite®; DPC, Los Angeles, CA, USA) e os valores de testosterona total e de prolactina foram determinados por eletroquimioluminescência – método ECLIA (Elecsys 2010; Roche-Diagnostics).

Os valores de testosterona livre e de testosterona biodisponível foram calculadas pelo método válido proposto por Vermeulen *et al.* (1999) [36].

Os valores de referência dos exames considerados no estudo são: glicose (70–99 mg/dL), colesterol total (<200 mg/dL), triglicerídeos (<200 mg/dL), HDL-c (≥ 35 mg/dL), LDL-c (<130 mg/dL), albumina (3,5 – 5,5 g/dL), TT (280 - 800 ng/dL), FT (2,62 – 16,7 ng/dL), BT (2,41 -8,27 ng/mL), SHBG (13 - 71 nmol/L), LH (0,8 – 7,6 mIU/mL), FSH (0,7 – 11,1 mIU/mL) e PRL (4,04 -15,20 ng/mL). Todas as análises foram feitas no mesmo laboratório.

Análise Estatística

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão (DP), salvo quando mencionados pelos autores. O teste *t* de Student foi utilizado para comparar médias de variáveis simétricas e o teste Mann-Whitney U foi utilizado para comparar médias de dados assimétricos. Eventualmente alguns dados com distribuição assimétrica tiveram a sua distribuição corrigida após transformação logarítmica. Análise de variância (ANOVA) foi utilizado para comparar médias entre os diferentes grupos de *pack-years*. Análise de Covariância (ANCOVA) foi utilizada para estimar médias ajustadas de TT, FT, BT, FSH, LH e de SHBG com os potenciais fatores de confusão nos diferentes grupos. A regressão logística, ajustada para os fatores de confusão, foi utilizada para verificar se existe associação entre a exposição tabágica (*pack-years*) e baixos valores de TT, FT, BT, FSH, LH e de SHBG. Razões de chances (*Odds ratio*-OR) e o intervalo de confiança de 95% (95%IC) foram obtidos após correção dos fatores de confusão.

Todos os testes estatísticos foram realizados pelo programa estatístico SPSS 12 (SPSS, Chicago, IL, USA). Foi considerada diferença estatística quando $P \leq 0,05$. O gráfico foi feito usando o programa SigmaPlot 11 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA).

RESULTADOS:

As características gerais da população de estudo estão apresentadas na tabela 1. Os voluntários tinham entre 30 e 70 anos de idade, com uma média de $47,4 \pm 10,0$ anos. A média \pm DP do IMC foi de $26,9 \pm 3,5$ kg/m² e a média \pm DP da RCQ foi de $0,95 \pm 0,05$. Dos 255 participantes do estudo, 238 (93,3%) eram caucasianos. Além disso, 90 (35,3%) foram considerados fumantes. O *pack-years of smoking* foi calculado e estratificado em quartis: ≤ 10 (n=22), 11-26 (n=23), 27-44 (n=23) e ≥ 45 (n=22) *pack-years*.

Fumantes e não fumantes apresentavam características gerais semelhantes (Tabela 1), embora não-fumantes possuísem maiores médias de circunferência do quadril (p=0,028), maiores médias de IMC (p=0,034), maiores médias de pressão sistólica (p=0,026) bem como maiores médias de PRL (p=0,006) do que fumantes.

A tabela 2 demonstra os valores médios \pm DP dos hormônios considerados no presente estudo. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada nos valores médios de TT (p=0,580), FT (p=0,869), BT (p=0,933), SHBG (p=0,279), LH (p=0,573) e FSH (p=0,693) nos diferentes níveis de *pack-years* quando comparados com não fumantes, mesmo após controlar para os possíveis fatores de confusão, como mostrado na Tabela 3.

Os fumantes também foram agrupados de acordo com o número de cigarros fumados por dia (1-10; 11-20; ≥ 20) e nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada nos valores médios hormonais e de SHBG entre os grupos quando comparados com não-fumantes, mesmo ajustando os valores para possíveis fatores de confusão (Tabela 4).

A Figura 1 ilustra o risco relativo (OR) e o IC95% ajustados para a ocorrência de valores subnormais dos hormônios de acordo com o nível de *pack-years of smoking*. Foram considerados valores subnormais de hormônios e de SHBG aqueles que ficaram abaixo do 1º quartil (<320ng/dL para TT, <7,0ng/dL para FT, $\leq 1,60$ ng/mL para BT, <19,8 nmol/L para SHBG, <3,10mUI/mL para LH e <3,7mUI/mL para FSH). Os resultados não mostraram uma clara associação entre o aumento da exposição tabágica (*pack-years of smoking*) com a ocorrência de valores subnormais de hormônios e de SHBG.

DISCUSSÃO

No presente estudo, não-fumantes e diferentes grupos de fumantes (classificados de acordo com o *pack-years of smoking*) tiveram valores médios similares de TT, FT, BT, SHBG, LH e de FSH, mesmo após o ajuste de possíveis fatores de confusão, tais como idade, IMC, RCQ, glicemia e prolactina. Além disso, nenhuma associação foi observada entre o aumento do *pack-years of smoking* e o aumento do OR para a ocorrência de baixos valores de andrógenos, gonadotrofinas e de SHBG.

Há diversos estudos na literatura avaliando a influência do tabagismo sobre os níveis séricos de TT [7-23]. Nossos resultados são consistentes com alguns destes estudos [9-15]. Harman *et al.* (2001) [13] analisaram 890 homens com idades variando entre 22 – 91 anos e não encontrou diferença estatisticamente significativa nos valores de TT de fumantes e não-fumantes, mesmo ajustando os dados para possíveis fatores de confusão, tais como ingestão de álcool, DM, doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral. Seguindo a mesma linha, Barrett-Connor *et al.* (1987) [10] estudaram 590 homens sem doenças cardiovasculares e também encontraram níveis similares de testosterona total entre fumantes e não-fumantes, mesmo ajustando os dados para idade e IMC. Da mesma forma, Saadat (2008) [15] também relatou níveis semelhantes de testosterona em fumantes e não-fumantes.

Entretanto, há alguns estudos que encontraram valores elevados de TT em fumantes [16-23]. Trummer *et al.* (2003) [19] analisou 1104 homens e encontrou níveis de TT elevados nos fumantes quando comparados com não-fumantes e ex-fumantes. Do mesmo modo, Corona *et al.* (2005) [21], ao estudarem 1150 homens oriundos de uma clínica de disfunção sexual, encontraram níveis de testosterona superiores nos fumantes, mesmo após o ajuste da idade e/ ou IMC. Porém, um potencial viés de seleção deve ser considerado nestas análises, pois ambos os estudos foram conduzidos em clínicas de fertilidade.

O(s) mecanismo(s) pelo(s) qual(is) o tabagismo possivelmente afeta os níveis de hormônios sexuais masculinos é(são) desconhecido(s). Porém, há algumas teorias na literatura indicando que o tabagismo afeta dos níveis de TT por diferentes mecanismos [7,37-39,42]. Briggs (1973) [7] sugere que a biossíntese de testosterona está diminuída em fumantes devido à inibição das hidroxilases presentes na célula de Leydig provocada pelo monóxido de carbono, pois o mesmo

inibe as reações citocromo-P450 dependentes, necessárias para a síntese de andrógenos [37]. Sugere-se, também, que a nicotina inibe a secreção de LH indiretamente, ao aumentar a liberação de dopamina, a qual, por sua vez, inibe a secreção do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) [37]. Além disso, Kimura *et al.* (2004) [38] sugerem que, em cultura de placóide olfativa embrionária de rato, a nicotina estimula a liberação do ácido gama-aminobutírico (GABA), o qual inibirá a secreção de GnRH. Não apenas a nicotina aumenta a liberação de dopamina e de GABA, como também aumenta a liberação de opióides no cérebro [39], os quais também inibem a secreção de GnRH [40]. Ao inibirem a secreção de LH, as células de Leydig perdem sua habilidade de secretar testosterona [41]. Ainda, há evidências de que o tabagismo provoque degeneração da célula de Leydig, bem como diminuição em número destas células, levando, portanto, a uma diminuição nos níveis de testosterona [42]. Porém, o efeito do cigarro nas células de Leydig não necessariamente se reflita em alterações nos níveis de testosterona circulante [42].

Embora haja diversos artigos na literatura documentando os possíveis efeitos negativos do cigarro na produção de andrógenos [7,37-39,42], alguns autores sugerem que o tabagismo aumenta os níveis de testosterona por diferentes mecanismos [21,23,43,44]. Mendelson *et al.* (2003) [43] demonstraram um aumento na liberação de LH após a exposição aguda de cigarros com alto teor de nicotina em pacientes já dependentes de nicotina. Além disso, Krsmanovic *et al.* (1998) [44] sugerem que a estimulação dos receptores nicotínicos presentes nos neurônios hipotalâmicos estimulam a liberação de GnRH. Por outro lado, em um estudo recente, Wu *et al.* (2008) [23] demonstraram que o aparente aumento dos níveis de testosterona total em fumantes se deva, primariamente, ao aumento de SHBG encontrado neste grupo, ocorrendo também um aumento compensatório de LH.

Embora neste estudo não tenhamos encontrado diferenças entre fumantes e não-fumantes com respeito aos andrógenos avaliados, não podemos descartar possíveis efeitos do tabagismo nos níveis de hormônios sexuais, uma vez que o cigarro contém aproximadamente 4,700 substâncias [45], incluindo substâncias carcinogênicas e diversos componentes orgânicos e inorgânicos [46].

No que tange à influência do tabagismo nos níveis de testosterona livre, os resultados dos estudos existentes também são controversos. No presente estudo, nós observamos níveis similares de FT entre fumantes e não-fumantes. Nossos resultados corroboram com os dados de 2 grandes estudos: um publicado por Field

et al. (1994) [17], que estudaram 1241 homens e outro publicado por Harman *et al.* (2001) [13], que analisaram 890 homens. Com respeito à forma bioativa da testosterona (BT), há apenas 2 estudos na literatura que avaliaram os efeitos do tabagismo sobre os níveis deste andrógeno [17,18]. Em ambos estudos, não houve diferença estatisticamente significativa entre fumantes e não-fumantes, mesmo ajustando os dados para idade e IMC, resultado, o qual, corrobora com o nosso estudo.

Acredita-se que 65 – 80% da TT circulante estão inativas ou fortemente ligadas ao SHBG [47]. Então, mudanças nos níveis de SHBG podem afetar os níveis de TT. Alguns estudos relataram níveis aumentados de SBHG em fumantes [17,18,22,23], enquanto outros estudos demonstraram valores semelhantes desta proteína entre fumantes e não-fumantes [10,12,14]. Ao analisarmos nossos dados, também não identificamos diferenças nos níveis de SHBG entre fumantes e não-fumantes, mesmo controlando para os fatores de confusão considerados no estudo.

Embora haja teorias sugerindo que alguns componentes do tabaco podem diminuir a liberação de GnRH e, conseqüentemente, de LH, o presente estudo não encontrou diferenças nos níveis de LH entre fumantes e não-fumantes, o que é corroborado pela maioria dos estudos publicados até o momento [8,14,15,22]. De acordo com estudos anteriores [15,19,22], no presente estudo observamos que os níveis de FSH foram similares entre fumantes e não-fumantes. Embora Trummer *et al.* (2001) [19] também tenham encontrado valores similares de FSH, o estudo deste autores foi conduzido em uma clínica de fertilidade, portanto, com potencial influência de viés de seleção.

Estes resultados conflitantes podem ser explicados, pelo menos parcialmente, por diferenças na metodologia do estudo (alguns são transversais, outros são casos-controle e outros são longitudinais), por controle inadequado dos fatores de confusão [2] bem como por quantificar inadequadamente a exposição tabágica ao qual o indivíduo está submetido. Por exemplo, alguns estudos não ajustaram seus dados para nenhum fator de confusão [9,11,14,15,19,23], enquanto a maioria dos estudos ajustaram seus dados para idade e IMC [7,10,17,18,20,21]. Porém, poucos estudos ajustaram seus dados para o consumo de álcool [13,16,22], o qual pode influenciar os níveis hormonais [48], causando hiperprolactinemia, que, por sua vez, é um conhecido fator que pode interferir na síntese de testosterona [31,32].

Até onde sabemos, o presente estudo é único ao investigar a associação entre tabagismo e níveis de hormônios sexuais masculinos usando *pack-years of smoking* como uma maneira de quantificar a carga tabágica cumulativa ao qual o indivíduo está exposto. Estudos anteriores adotaram o número de cigarros fumados por dia como uma maneira de quantificar a exposição ao tabaco. Este último método tem sido considerado controverso e de acordo com Bernaards *et al.* (2001) [24], *pack-years of smoking* é uma maneira mais confiável de estimar a exposição ao tabagismo, uma vez que leva em conta toda a história do hábito tabágico do indivíduo. As diferenças na quantificação da carga tabágica podem determinar diferenças nos estudos. Por esta razão, nós acreditamos ser importante padronizar o *pack-years of smoking* neste tipo de estudo.

Embora a quantificação do tabagismo tenha sido um ponto forte deste estudo, algumas limitações devem ser levadas em consideração. No nosso estudo, tanto a FT quanto a BT foram calculadas a partir da TT, do SHBG e da albumina usando a equação proposta por Vermeulen [36]. Embora a FT calculada seja uma maneira tão confiável quanto a FT dosada [49], a BT calculada é criticada por sua grande variabilidade [50]. Ao invés de calcular a BT, recomenda-se dosar a BT usando o método de precipitação do sulfato de amônio [49,50]. Infelizmente, este método não estava disponível e se torna impraticável devido ao seu elevado custo. Adicionalmente, nós não tivemos os dados a respeito do consumo alcoólico, por isso o ajuste para este fator de confusão não pode ser feito. Além disso, não foi possível ajustar os dados para dislipidemia nem para hipertensão por diminuir o poder estatístico caso os ajustes fossem feitos tendo em vista o tamanho da amostra. Outra limitação é que a informação sobre o hábito tabágico foi obtida através de questionários, o que pode resultar em viés de aferição. Todavia, ao categorizarmos *pack-years of smoking* em diferentes grupos, este viés certamente é reduzido [24]. Uma importante limitação é a amostra pequena após a categorização dos diferentes grupos de *pack-years*. Finalmente, nosso grupo de não-fumantes contém ex-fumantes e pessoas que nunca fumaram. Porém, se excluíssemos os ex-fumantes do grupo devido à sua exposição tabágica durante algum tempo de sua vida, nós perderíamos poder estatístico devido ao tamanho da amostra.

CONCLUSÃO

Em resumo, neste estudo, nós encontramos valores médios similares de TT, FT, BT, SHBG, LH e de FSH entre fumantes e não-fumantes, mesmo ajustando os dados para possíveis fatores de confusão. Além disso, nenhuma associação foi observada entre o aumento do *pack-years of smoking* e o aumento do risco de ocorrência de valores subnormais de andrógenos, de gonadotrofinas e de SHBG. Fazem-se necessárias futuras investigações usando *pack-years of smoking* como uma maneira de quantificar a carga tabágica ao qual o indivíduo está exposto a fim de elucidar a influência do tabagismo nos níveis hormonais, bem como para confirmar nossos resultados.

Tabela 1: Características gerais da população de estudo incluindo fumantes e não-fumantes

| Características | n | População Geral | Fumantes | Não-fumantes | P |
|------------------------------------------------------------|-----|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| | | | (n=90) | (n=165) | |
| Idade (anos) | 255 | 47,4±10,0 | 46,5±9,0 | 47,9±10,6 | 0,292 |
| Circunferência da cintura (cm) | 255 | 96,4±10,6 | 94,9±11,0 | 97,2±10,3 | 0,099 |
| Circunferência do quadril (cm) | 255 | 100,9±8,1 | 99,4±7,9 | 101,7±8,1 | 0,028 |
| Relação cintura/quadril | 255 | 0,95±0,05 | 0,95±0,06 | 0,95±0,05 | 0,806 |
| Peso (kg) | 255 | 80,0±12,2 | 78,8±12,2 | 80,7±12,2 | 0,240 |
| Altura (m) | 255 | 1,7±0,07 | 1,7±0,06 | 1,7±0,07 | 0,169 |
| Índice de Massa Corporal (kg/m ²) | 255 | 26,9± 3,5 | 26,3±3,8 | 27,3±3,3 | 0,034 |
| Pressão Sistólica (mmHg) | 255 | 124,5±13,3 | 122,0±10,0 | 125,0±14,0 | 0,026 |
| Pressão Diastólica (mmHg) | 255 | 81,9±8,9 | 80,9±6,1 | 82,5±10,1 | 0,174 |
| Testosterona Total (ng/dL) | 255 | 442,2±171,7 | 448,7±153,4 | 438,7±18,2 | 0,658 |
| Testosterona Livre (ng/dL) † | 254 | 9,6±3,8 | 9,7±3,5 | 9,5±3,9 | 0,640 |
| Testosterona Biodisponível (ng/mL) † | 254 | 2,2±0,9 | 2,2±0,8 | 2,2±0,99 | 0,950 |
| Globulina de ligação dos hormônios sexuais-SHBG (nmol/L) † | 254 | 27,4 [19,8-40,1] | 29,9 [19,7-41,7] | 26,9 [19,7-38,9] | 0,452 |
| Hormônio Luteinizante (mIU/mL) | 255 | 4,3 [3,1-5,8] | 4,4 [3,4-5,8] | 4,2 [2,8-5,8] | 0,216 |
| Hormônio Folículo Estimulante (mIU/mL) | 255 | 5,4 [3,7-7,6] | 5,5 [3,9-7,5] | 5,3 [3,6-7,6] | 0,710 |
| Prolactina (ng/mL) | 255 | 6,8 [5,4-9,7] | 6,1 [4,7-8,6] | 7,0 [5,6-10,4] | 0,006 |
| Glicose (mg/dL) ‡ | 254 | 93,0±36,9 | 90,8± 23,3 | 94,3±42,5 | 0,469 |
| Colesterol Total (mg/dL) ‡† | 253 | 187,9±43,7 | 184,7 ±42,9 | 189,7±44,2 | 0,385 |
| HDL-colesterol (mg/dL) †† | 252 | 43,6±12,5 | 42,0±13,7 | 44,5±11,8 | 0,128 |
| LDL-colesterol (mg/dL) † | 243 | 113,0±38,4 | 113,3±39,9 | 112,8±37,7 | 0,920 |
| Triglicerídeos (mg/dL) ‡ | 254 | 138,0 [88,7-205,0] | 136,0 [87,0-186,0] | 140,0 [92,0-207,5] | 0,485 |
| Albumina (g/dL) | 255 | 4,3±0,6 | 4,3±0,5 | 4,4±0,6 | 0,154 |

Dados estão expressos como média ± DP ou como mediana [quartil].

† Não-fumante n= 164

‡ Fumantes n= 89

†† Fumantes n= 88

††† Fumantes n= 84; não-fumantes n= 159

Tabela 2: Valores médios dos níveis hormonais e de globulina de ligação dos hormônios sexuais (SHBG) de acordo com o *pack-years of smoking* e não fumantes em homens adultos.

| Variável | Não-fumantes n = 165 | Fumantes (pack-years) | | | | P |
|---------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|---------------|-------|
| | | ≤10 n = 22 | 11-26 n = 23 | 27-44 n = 23 | ≥45 n = 22 | |
| TT (ng/dL) | 438,7 ± 181,2 | 402,7 ± 127,9 | 441,9 ± 157,0 | 480,5 ± 173,3 | 468,4 ± 149,1 | 0,580 |
| FT (ng/dL) † | 9,5 ± 3,9 | 9,5 ± 3,7 | 9,3 ± 3,5 | 9,7 ± 3,6 | 10,40 ± 3,5 | 0,869 |
| BT (ng/mL) † | 2,2 ± 0,9 | 2,2 ± 0,8 | 2,2 ± 0,8 | 2,2 ± 0,8 | 2,4 ± 0,8 | 0,933 |
| SHBG (nmol/L)* ‡ | 1,4 ± 0,2 | 1,3 ± 0,2 | 1,5 ± 0,2 | 1,5 ± 0,2 | 1,4 ± 0,2 | 0,318 |
| LH (mUI/mL)* | 0,6 ± 0,2 | 0,6 ± 0,1 | 0,6 ± 0,2 | 0,7 ± 0,2 | 0,7 ± 0,2 | 0,374 |
| FSH (mUI/mL)* | 0,7 ± 0,3 | 0,7 ± 0,2 | 0,7 ± 0,2 | 0,7 ± 0,3 | 0,8 ± 0,3 | 0,772 |

*os dados foram transformados logaritmicamente

P obtido por ANOVA; P<0,05

† Não-fumantes n=164

TT = Testosterona Total; FT = Testosterona Livre; BT = Testosterona Biodisponível; SHBG = Globulina de ligação dos hormônios sexuais; LH = Hormônio Luteinizante; FSH = Hormônio Folículo estimulante

Tabela 3: Valores médios dos andrógenos, gonadotrofinas e globulina de ligação dos hormônios sexuais de acordo com *pack-years of smoking* e não-fumantes em homens adultos.

| Variável | Não-fumantes | Fumantes (<i>pack-years</i>) | | | | P |
|---------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|
| | | ≤10 | 11-26 | 27-44 | ≥45 | |
| | n = 165 | n = 22 | n = 23 | n = 23 | n = 22 | |
| TT (ng/dL) | 440,8 (416,2 - 465,4) | 405,0 (337,4 - 472,6) | 452,4 (386,1 - 518,7) | 457,9 (391,3 - 524,5) | 476,9 (408,0 - 545,8) | 0,648 |
| FT (ng/dL) † | 9,5 (8,9 - 10,0) | 9,4 (7,7 - 10,9) | 9,1 (7,5 - 10,6) | 9,9 (8,3 - 11,4) | 10,6 (9,0 - 12,3) | 0,677 |
| BT (ng/mL) † | 2,2 (2,1 - 2,4) | 2,2 (1,8 - 2,6) | 2,1 (1,7 - 2,4) | 2,2 (1,8 - 2,6) | 2,5 (2,0 - 2,8) | 0,740 |
| SHBG (nmol/L)* † | 27,9 (26,1 - 29,9) | 25,4 (21,0 - 30,7) | 33,2 (27,5 - 39,9) | 28,1 (23,3 - 33,8) | 28,3 (23,4 - 34,4) | 0,374 |
| LH (mUI/mL)* | 4,0 (3,7 - 4,3) | 4,1 (3,3 - 5,1) | 4,6 (3,8 - 5,7) | 4,5 (3,6 - 5,5) | 5,1 (4,1 - 6,4) | 0,196 |
| FSH (mUI/mL)* | 5,3 (4,9 - 5,9) | 5,4 (4,2 - 7,0) | 6,3 (4,9 - 8,1) | 4,6 (3,6 - 5,9) | 6,3 (4,8 - 8,2) | 0,359 |

* Médias e IC95% foram *back transformed*

Valor de P obtido pelo modelo ANCOVA ajustado para fatores de confusão. P<0,05

† Não-fumantes n=164

TT = Testosterona Total; FT = Testosterona Livre; BT = Testosterona Biodisponível; SHBG = Globulina de ligação dos hormônios sexuais; LH = Hormônio Luteinizante; FSH = Hormônio Folículo estimulante

Tabela 4: Valores médios dos hormônios sexuais masculinos, gonadotrofinas, globulina de ligação dos hormônios sexuais de acordo com o número de cigarros fumados por dia e não-fumantes em homens adultos.

| Variável | Número de cigarros/dia | | | | P |
|------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|
| | 0 | 1-10 | 11-20 | ≥20 | |
| | n = 165 | n = 20 | n = 45 | n = 25 | |
| TT (ng/dL) | 440,8 (416,2 - 465,3) | 402,2 (331,8 - 472,5) | 457,4 (410,3 - 504,5) | 468,3 (403,8 - 532,9) | 0,507 |
| FT (ng/dL) † | 9,5 (8,9 - 10,0) | 9,4 (7,8 - 11,1) | 9,7 (8,6 - 10,8) | 10,0 (8,5 - 11,5) | 0,931 |
| BT (ng/mL) † | 2,2 (2,1 - 2,4) | 2,1 (1,7 - 2,5) | 2,2 (1,9 - 2,5) | 2,3 (1,9 - 2,6) | 0,971 |
| SHBG (nmol/L)* † | 27,9 (26,0 - 29,9) | 25,2 (20,8 - 30,8) | 29,9 (26,1 - 34,1) | 29,5 (24,6 - 35,4) | 0,518 |
| LH (mUI/mL)* | 4,0 (3,7 - 4,3) | 4,0 (3,2 - 4,9) | 4,7 (4,1 - 5,5) | 4,9 (4,0 - 5,9) | 0,109 |
| FSH (mUI/mL)* | 5,4 (4,9 - 5,9) | 5,5 (4,2 - 7,2) | 5,7 (4,7 - 6,8) | 5,6 (4,4 - 7,2) | 0,944 |

* Médias e IC95% foram *back transformed*

Valor de P obtido pelo modelo ANCOVA ajustado para fatores de confusão. P

† Não-fumantes n=164

TT = Testosterona Total; FT = Testosterona Livre; BT = Testosterona Biodisponível; SHBG = Globulina de ligação dos hormônios sexuais; LH = Hormônio Luteinizante; FSH = Hormônio Folículo estimulante

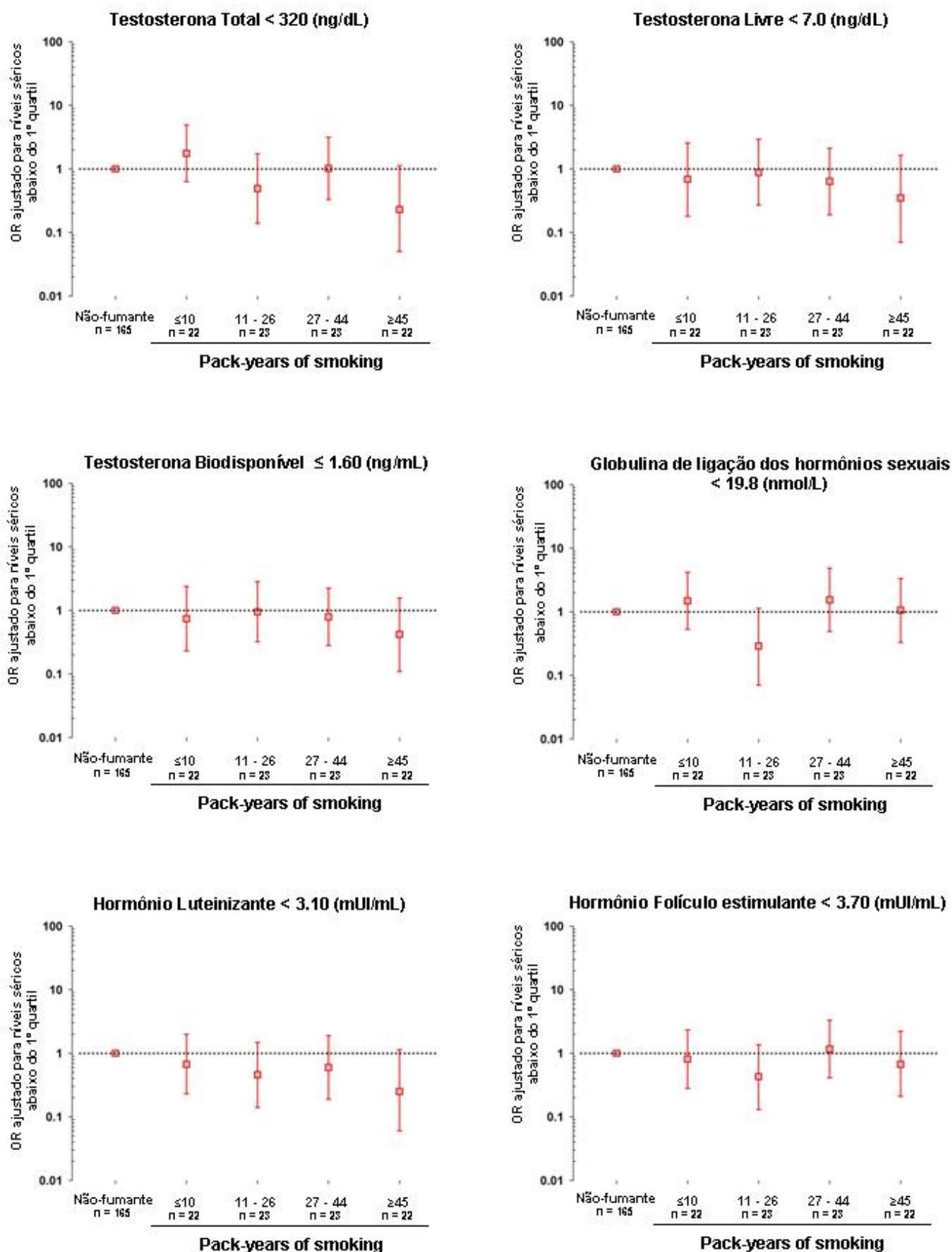


Figura 1 – OR para níveis hormonais abaixo do 1º quartil obtido em modelo de regressão logística múltipla ajustado para os seguintes fatores: idade, glicemia, índice de massa corporal, relação cintura/quadril e prolactina

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] World Health Organization. World Health Statistics 2008. WHO Press: Geneva 2008, 18pp. Disponível em: <http://www.who.int/whosis/whostat/en/>. Acessado em: 1º de agosto, 2008.

[2] Vine MF. Smoking And Male Reproduction: A Review. *Int J Androl.* 1996;19: 323-37.

[3] Chew KK, Bremner A, Stuckey B, Earle C, Jamrozik K. Is the Relationship Between Cigarette Smoking and Male Erectile Dysfunction Independent of Cardiovascular Disease? Findings from a Population-Based Cross-Sectional Study. *J Sex Med.* 2008 Aug 28. [Epub ahead of print].

[4] Teles AG, Carreira M, Alarcão V, Aragüés JM, Lopes L, Mascarenhas M, Costa JG. Prevalence, Severity, and Risk Factors for Erectile Dysfunction in a Representative Sample of 3,548 Portuguese Men Aged 40 to 69 Years Attending Primary Healthcare Centers: Results of the Portuguese Erectile Dysfunction Study. *J Sex Med.* 2008;5: 1317-24.

[5] Andersen I, Heitman BL, Wagner G. Obesity and Sexual Dysfunction in Younger Danish Men. *J Sex Med.* 2008;5: 2053-60.

[6] Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Jensen MS, Toft G, Bonde JP. Is Smoking A Risk Factor For Decreased Semen Quality? A Cross-Sectional Analysis. *Hum Reprod.* 2007;22: 188-96.

[7] Briggs MH. Cigarette-Smoking And Infertility In Men. *Med J Aust.* 1973;1: 616-17.

- [8] Shaarawy M, Mahmoud KZ. Endocrine Profile And Semen Characteristics In Male Smokers. *Fertil Steril*. 1982;38: 255-57.
- [9] Lindholm J, Winkel P, Brodthagen U, Gyntelberg F. Coronary Risk-Factors And Plasma Sex-Hormones. *Am J Med*. 1982;73: 648-51.
- [10] Barrett-Connor E, Khaw KT. Cigarette-Smoking And Increased Endogenous Estrogen-Levels In Men. *Am J Epidemiol*. 1987;126: 187-92.
- [11] Attia AM, Eldakhly MR, Halawa FA, Ragab NF, Mossa MM. Cigarette-Smoking And Male Reproduction. *Arch Androl*. 1989;23: 45-49.
- [12] Hautanen A, Manttari M, Kupari M, Sarna S, Manninen V, Frick MH, Adlercreutz H. Cigarette-Smoking Is Associated With Elevated Adrenal Androgen Response To Adrenocorticotropin. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1993;46: 245-51.
- [13] Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR. Longitudinal Effects Of Aging On Serum Total And Free Testosterone Levels In Healthy Men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86: 724-31.
- [14] Richthoff J, Elzanaty S, Rylander L, Hagmar L, Giwercman A. Association Between Tobacco Exposure And Reproductive Parameters In Adolescent Males. *Int J Androl*. 2008;31: 31-39.
- [15] Saadat M. Serum levels of testosterone and gonadotropins with respect to smoking status and genetic polymorphism of *GSTT1*. *Mol Biol Rep*. 2008.

- [16] Dai WS, Gutai JP, Kuller LH, Cauley JA. Cigarette-Smoking And Serum Sex-Hormones In Men. *Am J Epidemiol.* 1988;128: 796-805.
- [17] Field AE, Colditz GA, Willett WC, Longcope C, Mckinlay JB. The Relation Of Smoking, Age, Relative Weight, And Dietary-Intake To Serum Adrenal-Steroids, Sex-Hormones, And Sex Hormone-Binding Globulin In Middle-Aged Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79: 1310-16.
- [18] English KM, Pugh PJ, Parry H, Scutt NE, Channer KS, Jones TH. Effect Of Cigarette Smoking On Levels Of Bioavailable Testosterone In Healthy Men. *Clin Sci (Lond).* 2001;100: 661-65.
- [19] Trummer H, Habermann H, Haas J, Pummer K. The Impact Of Cigarette Smoking On Human Semen Parameters And Hormones. *Hum Reprod.* 2002;17: 1554-59.
- [20] Ponholzer A, Plas E, Schatzl G, Struhal G, Brössner C, Mock K, Rauchenwald M, Madersbacher S. Relationship between testosterone serum levels and lifestyle in aging men. *Aging Male.* 2005;8: 190-93.
- [21] Corona G, Mannucci E, Petrone L, Ricca V, Mansani R, Cilotti A, Balercia G, Chiarini V, Giommi R, Forti G, Maggi M. Psychobiological Correlates Of Smoking In Patients With Erectile Dysfunction. *Int J Impot Res.* 2005;17: 527-34.
- [22] Svartberg J, Jorde R. Endogenous Testosterone Levels And Smoking In Men. The Fifth Tromso Study. *Int J Androl.* 2007;30: 137-43.
- [23] Wu FCW, Tajar A, Pye SR, Silman AJ, Finn JD, O'Neill TW, Bartfai G, Casanueva F, Forti G, Giwercman A, Huhtaniemi IT, Kula K, Punab M, Boonen S,

Vanderschueren D, European Male Aging Study Group. Hypothalamic-Pituitary-Testicular Axis Disruptions In Older Men Are Differentially Linked To Age And Modifiable Risk Factors: The European Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93: 2737-45.

[24] Bernaards CM, Twisk JWR, Snel J, Van Mechelen W, Kemper HCG. Is Calculating Pack-Years Retrospectively A Valid Method To Estimate Life-Time Tobacco Smoking? A Comparison Between Prospectively Calculated Pack-Years And Retrospectively Calculated Pack-Years. *Addiction.* 2001; 96: 1653-61.

[25] Maderbacher S, Schatzl G, Bieglmayer C, Reiter WJ, Gassner C, Berger P, Zidek T, Marberger M. Impact Of Radical Prostatectomy And Turp On the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Hormone Axis. *Urology.* 2002; 60: 869-874.

[26] National Institutes of Health, Division of Nutrition and Physical Activity, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion's The practical Guide: Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. Disponível em: http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/obesity/prctgd_c.pdf. Acessado em: 22 de janeiro, 2007.

[27] Rhoden EL, Ribeiro EP, Teloken C, Souto CAV. Diabetes Mellitus Is Associated With Subnormal Serum Levels Of Free Testosterone In Men. *BJU.* 2005;96: 867-70.

[28] Kapoor D, Aldred H, Clark S, Channer KS, Jones TH. Clinical And Biochemical Assessment Of Hypogonadism In Men With Type 2 Diabetes: Correlations With Bioavailable Testosterone And Visceral Adiposity. *Diabetes Care.* 2007;30: 911-17.

[29] Haffner SM, Valdez RA, Stern MP, Katz MS. Obesity, Body-Fat Distribution And Sex-Hormones In Men. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1993;17: 643-49.

[30] Abate N, Haffner SM, Garg A, Peshock RM, Grundy SM. Sex Steroid Hormones, Upper Body Obesity, And Insulin Resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87: 4522-27.

[31] Grattan DR, Jasoni CI, Liu XH, Anderson GM, Herbison AE. Prolactin Regulation Of Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons To Suppress Luteinizing Hormone Secretion In Mice. *Endocrinology*. 2007;148: 4344-51.

[32] Corona G, Mannucci E, Fisher AD, Lotti F, Ricca V, Balercia G, Petrone L, Forti G, Maggi M. Effect of hyperprolactinemia in male patients consulting for sexual dysfunction. *J Sex Med*. 2007, 4: 1485-93.

[33] Sepaniak S, Forges T, Gerard H, Foliguet B, Bene MC, Monnier-Barbarino P. The Influence Of Cigarette Smoking On Human Sperm Quality And Dna Fragmentation. *Toxicology*. 2006;223: 54-60.

[34] Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Gooren LJ, Kaufman JM, Legros JJ, Lunenfeld B, Morley JE, Schulman C, Wang C, Weidner W, Wu FCW, International Society of Andrology (ISA), International Society for the study of the aging male (ISSAM) European Association of Urology (EAU). Investigation, Treatment And Monitoring Of Late-Onset Hypogonadism In Males ISA, ISSAM, And EAU Recommendations. *Eur Urol*. 2005;48: 1-4.

[35] Friedewald WT, Fredrick DS, Levy RI. Estimation Of Concentration Of Low-Density Lipoprotein Cholesterol In Plasma, Without Use Of Preparative Ultracentrifuge. Clin Chem. 1972;18: 499-02.

[36] Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman Jm. A Critical Evaluation Of Simple Methods For The Estimation Of Free Testosterone In Serum. J Clin Endocrinol Metab. 1999;84: 3666-72.

[37] Fuxe K, Andersson K, Eneroth P, Harfstrand A, Agnati LF. Neuro-Endocrine Actions Of Nicotine And Of Exposure To Cigarette-Smoke - Medical Implications. Psychoneuroendocrinology. 1989;14: 19-41.

[38] Kimura F, Shinohara K, Funabashi T, Et Al. Nicotine Inhibition Of Pulsatile GnRh Secretion Is Mediated By GABA(A) Receptor System In The Cultured Rat Embryonic Olfactory Placode. Psychoneuroendocrinology. 2004;29: 749-56.

[39] Pomerleau OF. Endogenous opioids and smoking: A review of progress and problems. Psychoneuroendocrinology. 1998;23: 115-30.

[40] Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri RL. Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management. 4th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999.

[41] Dong Q, Hardy MP. Leydig Cell Function in Man. In: Winters SJ, ed. Male Hypogonadism. Humana Press Inc: Totowa, 2004, 32pp.

[42] Yardimci S, Atan A, Delibasi T, Sunguroglu K, Guven MC. Long-Term Effects Of Cigarette-Smoke Exposure On Plasma Testosterone, Luteinizing Hormone And

Follicle-Stimulating Hormone Levels In Male Rats. *Br J Urol.* 1997;79: 66-69.

[43] Mendelson JH, Sholar MB, Mutschler NH, Et Al. Effects Of Intravenous Cocaine And Cigarette Smoking On Luteinizing Hormone, Testosterone, And Prolactin In Men. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 307: 339-48.

[44] Krsmanovic LZ, Mores N, Navarro CE, Saeed SA, Arora KK, Catt KJ. Muscarinic Regulation Of Intracellular Signaling And Neurosecretion In Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. *Endocrinology.* 1998;139: 4037-43.

[45] Wooten JB, Chouchane S, McGrath TE. Tobacco Smoke Constituents Affecting Oxidative Stress. In: Halliwell BB, Poulsen HE, ed. *Cigarette Smoke And Oxidative Stress.* Springer: Berlin, 2006, 6pp.

[46] Hoffmann D, Hoffmann I, El-Bayoumy K. The Less Harmful Cigarette: A Controversial Issue. A Tribute to Ernst L. Wynder. *Chem Res Toxicol.* 2001;14: 767-90.

[47] Kapoor D, Jones TH. Smoking And Hormones In Health And Endocrine Disorders. *Eur J Endocrinol.* 2005;152: 491-99.

[48] Emanuele MA, Emanuele N. Alcohol And The Male Reproductive System. *Alcohol Res Health.* 2001;25: 282-87.

[49] Carruthers M, Trinick TR, Wheeler MJ. The Validity Of Androgen Assays. *Aging Male.* 2007;10: 165-72.

[50] Giton F, Fiet J, Guechot J, Ibrahim F, Bronsard F, Chpin D, Raynaud JP. Serum Bioavailable Testosterone: Assayed Or Calculated? *Clin Chemi.* 2006; 52:474-81.

ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS

Artigo submetido e aceito para publicação no *The Journal of Sexual Medicine*

Fator de Impacto JCR/2007: **6.199.**

Evaluation of the effects of cigarette smoking on testosterone levels in adult men*

Graziele Halmenschlager¹

Simone Rossetto²

Gustavo Müller Lara³

Ernani Luis Rhoden⁴

* From the Research Center of the Post-graduate Program in Medical Sciences at the Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSPA - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre) – Porto Alegre, RS, Brazil and from Centro Universitário Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Biomedicina – Novo Hamburgo, RS, Brazil.

¹ MS, Post-graduate Course at Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSPA - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre) – Porto Alegre, RS, Brazil

² MS, Centro Universitário Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Biomedicina – Novo Hamburgo, RS, Brazil

³ MS, Centro Universitário Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Biomedicina – Novo Hamburgo, RS, Brazil

⁴ MD, PhD, Professor of Urology, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSPA - Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre) – Porto Alegre, RS, Brazil - CNPq-Conselho Nacional de Pesquisa- Researcher Level 2

Corresponding Author:

Graziele Halmenschlager
Rua Dona Rafaela, 319 apto 501
Zip Code: 92020-030
Canoas, RS, Brazil
E-mail: grazihal@gmail.com
Phone: 55 51- 34772474
FAX: 55 51 33333144

ABSTRACT

Introduction: Cigarette smoking is highly prevalent among men. Many studies have evaluated the effect of cigarette smoking on levels of male reproductive hormones; however the findings still remain controversial.

Aim: To evaluate the influence of cigarette smoking on serum levels of Total Testosterone (TT), Free Testosterone (FT), Bioavailable Testosterone (BT), sex hormone binding globulin (SHBG), Luteinizing hormone (LH) and Follicle stimulating hormone (FSH).

Methods: A total of 255 men (90 smokers and 165 non-smokers), aged 30-70, were investigated. Weight and height were obtained and body mass index (BMI) was calculated. Also, waist circumference and hip circumference were measured and waist-to-hip ratio (WHR) was obtained. Fasting blood samples were drawn for determination of plasmatic glucose levels and serum levels of total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), triglycerides, albumin, prolactin (PRL), TT, SHBG, LH and FSH. The values of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) were determined by Friedwald equation and the values of FT and BT were calculated from TT, SHBG and albumin. Statistical significance was set at $P \leq 0.05$.

Main outcome measures: The influence of smoking on levels of TT, FT and BT.

Results: No significant difference was observed in the mean values of TT ($p=0.580$), FT ($p=0.869$), BT ($p=0.933$), SHBG ($p=0.279$), LH ($p=0.573$) and FSH ($p=0.693$) in the different levels of pack-years when compared to non-smokers. Moreover, after multivariate logistic regression, no association between increased pack-years of smoking and increased *Odds Ratio* for occurrence of low hormones and SHBG levels was observed.

Conclusion: In this study, smokers and non-smokers had similar mean values of androgens, gonadotropins and SHBG. However, it is necessary to standardize pack-years of smoking in order to elucidate the influence of cigarette smoking on sex hormone levels, as well as to minimize differences among studies and to confirm our results.

Key words: Testosterone, bioavailable testosterone, hypogonadism, smoking, tobacco

INTRODUCTION

Despite the health hazards caused by tobacco use, cigarette smoking is still highly prevalent. It is believed that approximately 22% of adults worldwide are currently smokers [1]. It is also believed that 36% of men worldwide smoke [1]. Due to the high prevalence of smoking among men, there has been great concern about the effects of cigarette smoking on male reproductive function [2].

Besides increasing the risk of erectile dysfunction [3-5], there is evidence in literature suggesting that cigarette smoking reduces semen quality by decreasing sperm concentration, decreasing sperm motility and by increasing the percentage of morphologically abnormal sperm [2,6]. According to Vine (1996) [2], cigarette smoke may affect semen quality by influencing hormone levels.

The impact of smoking on levels of male reproductive hormones has been widely studied. However, the results of these studies are controversial. Some studies have demonstrated lower [7, 8], similar [9-15], or higher [16-23] total testosterone (TT) levels in smokers compared to non-smokers. Similar contradictions can be found in studies that evaluated the influence of smoking on serum levels of free testosterone (FT), bioavailable testosterone (BT) and gonadotropins [8, 13-16, 18-23]. These conflicting results can be explained by differences among studies, such as different study designs, inadequate control of potential confounding factors [2] and, especially, due to error in quantifying tobacco exposure which leads to misclassification bias.

AIM

The aim of this study was to evaluate the influence of cigarette smoking (expressed in pack-years of smoking, which is a common method used to estimate life-time tobacco exposure [24]), on serum levels of TT, FT, BT, follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) and sex hormone binding globulin (SHBG) in adult men.

MATERIAL AND METHODS:

Study design and population

This cross-sectional study was carried out in a primary health service in Canoas and Nova Santa Rita cities, Southern Brazil, from April 2007 to May 2008. A total of 1.356 consecutive men were invited to participate in this study during their regular visits to a primary care physician. Exclusion criteria included the presence of self-reported Diabetes Mellitus (DM), cirrhosis or any other liver disease or neoplastic condition, pelvic surgery due to prostate cancer [25] psychiatric disease, use of mood stabilizers, psychotropic and anxiolytic agents as well as medications that affect the endocrine system, use of any kind of drug abuse (but cigarette and alcohol intake), illiteracy and individuals with obesity class II and III according to the National Institutes of Health guidelines [26].

A total of 255 men, aged 30 – 70 years, were eligible and were recruited for this study. All of them signed the written informed consent. The study protocol was approved by our local Institutional Ethical Committee.

Clinical examination

All the clinical examination was performed by a single trained medical professional (GH). Weight (kg) was measured using a scale (Filizola®, São Paulo, Brazil) and height (cm) was obtained on a stadiometer. Body Mass Index (BMI) was calculated dividing the weight (kg) by the height squared (m^2). Waist circumference and hip circumference were measured using a flexible measuring tape. Waist to hip ratio (WHR) was obtained dividing the waist circumference by the hip circumference. All the anthropometry was performed in standing subjects wearing light clothes and without shoes.

In supine position, blood pressure was measured twice with a sphygmomanometer at the right arm after a 10-min rest and the average of the measurements was used.

Potential confounding factors

Some potential confounding factors associated with alteration in hormone levels such age [13] fasting blood glucose [27,28], BMI (general obesity) [29,30],

WHR (central adiposity) [27,29] and serum levels of prolactin [31,32] were investigated and were included in the analyses.

Smoking status

Smoking habits were assessed by self-report. Smoking status was defined as smokers and non-smokers. It was considered smoker every man who had smoked cigarettes for 6 months or more and was still smoking during the time of the interview and it was considered non-smoker every man who had never smoked as well as man who had stopped smoking for more than 6 months prior to the time of the interview [33]. Smokers were asked to answer a questionnaire that covered questions about the usual number of cigarettes smoked per day and for how many years they have smoked that amount. Based on this, by multiplying the number of packs smoked per day (1 pack=20 cigarettes) by the number of years smoked, pack-years of smoking were obtained. Pack-years of smoking are a common method used to estimate lifetime tobacco exposure and it takes into account somebody's whole history of smoking [24]. Pack-years of smoking were categorized as quartiles of pack-years, considering ≤ 10 ; 11-26; 27-44; ≥ 45 pack-years. It is believed that categorizing retrospectively calculated pack-years is a form to reduce a potential misclassification bias [24]. In order to verify the current effect of tobacco on hormones, smokers were also grouped according to the number of cigarettes smoked per day (1-10; 11-20; ≥ 20).

Laboratory measurements

Blood samples were drawn between 7 and 11 a.m. [34] after 12 hours of fasting for determination of plasmatic glucose and serum levels of total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), triglycerides, albumin, prolactin (PRL), total testosterone (TT), sex hormone binding globulin (SHBG), luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH).

Glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides and albumin were measured by colorimetric assay (Labquest – Labtest Diagnostic, MG, Brazil). The values of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) were determined by the Friedewald equation [35] when the values of triglycerides were ≤ 400 mg/dL.

The levels of SHBG, LH and FSH were measured by chemiluminescent immunometric assay (Immulite®; DPC, Los Angeles, CA, USA). Total testosterone

and PRL were determined by electrochemiluminescence immunoassay – ECLIA method (Elecsys 2010; Roche-Diagnostics).

The values of free testosterone (FT) and BT were calculated from TT, SHBG and albumin according to a valid method proposed by Vermeulen *et al.* (1999) [36].

The normal range for the exams considered in the study were: glucose (70 to 99 mg/dL), total cholesterol (<200 mg/dL), triglycerides (<200 mg/dL), HDL-c (\geq 35 mg/dL), LDL-c (<130 mg/dL), albumin (3.5 to 5.5 g/dL), TT (280 to 800 ng/dL), FT (2.62 to 16.7 ng/dL), BT (2.41 to 8.27 ng/mL), SHBG (13 to 71 nmol/L), LH (0.8 to 7.6 mIU/mL), FSH (0.7 to 11.1 mIU/mL) and PRL (4.04 to 15.20 ng/mL). All assays were performed in the same laboratory.

Statistical Analyses

Data were expressed as mean \pm standard deviation (SD), unless otherwise stated. Student *t* test was utilized to compare means of normally distributed data and Mann-Whitney U-test was used to compare means of non-normally distributed data. SHBG, LH and FSH were slightly skewed, but data assumed normal distribution after logarithmic transformation. Analysis of Variance (ANOVA) was used to compare means among the different groups of pack-years. Analysis of Covariance (ANCOVA) was utilized to estimate adjusted means of TT, FT, BT, FSH, LH and SHBG with potential confounding factors in the different groups. Multivariate logistic regression adjusted for potential confounding factors was used to verify associations between smoking exposure (pack-years of smoking) and low serum levels of TT, FT, BT, FSH, LH and SHBG. *Odds ratio* (OR) and 95% confidence intervals (CIs) were obtained after correcting for the confounders.

All the statistical analyses were performed using SPSS statistical software package version 12.0 for Windows (SPSS, Chicago, IL, USA). Statistical significance was set at $P \leq 0.05$. The graphic was done using SigmaPlot software version 11.0 for Windows (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA).

Main Outcome Measures:

To evaluate the influence of cigarette smoking, quantified as pack-years of smoking as previously described, on serum levels of TT, FT and BT.

RESULTS:

The general characteristics of the study population are shown in Table 1. The volunteers were 30 to 70 years old with mean \pm SD age of 47.4 ± 10.0 years. The mean \pm SD BMI was 26.9 ± 3.5 and the mean \pm SD WHR was 0.95 ± 0.05 . Of the 255 participants, 238 (93.3%) were Caucasian. Besides that, 90 (35.3%) were considered smokers. Pack-years of smoking were calculated and stratified into quartiles: ≤ 10 (n=22), 11-26 (n=23), 27-44 (n=23) and ≥ 45 (n=22) of pack-years.

Smokers and non-smokers had similar general characteristics (Table 1), although non-smokers had higher means of hip circumference ($p=0.028$), higher means of BMI ($p=0.034$), higher means of systolic blood pressure ($p=0.026$) as well as higher means of PRL ($p=0.006$) than smokers.

Table 2 depicts the mean \pm SD of serum hormones considered in the present study. No significant difference was observed in the mean values of TT ($p=0.580$), FT ($p=0.869$), BT ($p=0.933$), SHBG ($p=0.279$), LH ($p=0.573$) and FSH ($p=0.693$) in the different levels of pack-years when compared to non-smokers, even after controlling for potential confounders, as shown in Table 3.

Smokers were also grouped according to the number of cigarettes smoked per day (1-10; 11-20; ≥ 20) and no statistical significant difference was found in the mean values of hormones and protein levels among the groups when compared to non-smokers, even after adjusting for potential confounders (table 4).

Figure 1 illustrates the multivariate adjusted OR and 95%CI for occurrence of low hormones and protein levels according to pack-years of smoking. Low hormones and protein levels were defined as the lowest quartile of values ($<320\text{ng/dL}$ for TT, $<7.0\text{ng/dL}$ for FT, $\leq 1.60\text{ng/mL}$ for BT, $<19.8\text{ nmol/L}$ for SHBG, $<3.10\text{mUI/mL}$ for LH and $<3.7\text{mUI/mL}$ for FSH). Results showed no clear association between increased pack-years of smoking and increased OR for occurrence of low hormones and SHBG levels.

DISCUSSION

In this current study, non smokers and different groups of smokers (according to pack-years of smoking) had similar mean levels of serum TT, FT, BT, SHBG, LH and FSH, even after adjusting for potential confounders, such as age, BMI, WHR, fasting blood glucose and prolactin. Furthermore, no association between increased pack-years of smoking and increased OR for occurrence of low levels of androgens, gonadotropins and SHBG was observed.

There are several studies in literature evaluating the influence of cigarette smoking on serum TT levels [7-23]. Our results are consistent with some of those studies [9-15]. Harman *et al.* (2001) [13], in a population-based study, analyzed 890 men aged 22 – 91 years and found no significant effect of current smoking on TT levels, even after adjusting for confounders, such as alcohol intake, DM, stroke and coronary heart disease. Similarly, Barrett-Connor *et al.* (1987) [10] studied 590 men without cardiovascular disease and also found similar TT levels between smokers and non-smokers, after age and BMI adjustment. In a more recent study, Saadat (2008) [15] also reported no influence of cigarette smoking on TT levels.

Conversely, there are some studies reporting higher TT levels in smokers [16-23]. Trummer *et al.* (2003) [19] analyzed 1104 men and found higher levels of TT in smokers compared with non- and ex-smokers. Additionally, Corona *et al.* (2005) [21] studied 1150 men in an outpatient clinic for sexual dysfunction and also found higher TT levels in smokers, after age and/or BMI adjustment. However a potential selection bias must be considered in these analyses as both studies were conducted in an infertility unit.

The mechanism in which cigarette smoking possible affects male sex hormone levels is unclear. However, there are some theories in literature indicating that cigarette smoking may affect testosterone levels by different mechanisms [7,37-39,42]. Briggs (1973) [7] has suggested that testosterone biosynthesis is reduced in smokers due to carbon monoxide (CO) inhibition of Leydig cell microsomal hydroxylases, as CO inhibits cytochrome P450-dependent reactions required for androgen biosynthesis [37]. It has also been suggested that nicotine inhibits LH secretion due to an increase of dopamine release, which, in turn, inhibits gonadotropin-releasing hormone (GnRH) [37]. Besides that, Kimura *et al.* (2004) [38] suggest that, in cultured rat embryonic olfactory placode, nicotine stimulates gamma amino butyric acid (GABA) release, which, in turn, inhibits GnRH secretion.

Additionally, it has been proposed that nicotine stimulates the release of opioid peptides in the brain [39], which also inhibit GnRH secretion [40]. By inhibiting LH secretion, Leydig cells lose their ability to secrete testosterone [41]. In addition, it seems that cigarette smoking causes degeneration of Leydig cells as well as a decrease in this cell population, which can lead to a decrease in testosterone levels [42]. However, this effect of cigarette smoking on Leydig cells does not necessarily reflect an alteration in peripheral hormone levels [42].

Although there are extensive literature documenting the possible negative effects of smoking on androgen production [7,37-39,42], some authors have suggested that smoking can also increase TT levels by different mechanisms [21,23,43,44]. Mendelson *et al.* (2003) [43] have demonstrated an increase of LH release after acute exposure to high nicotine cigarette smoking in nicotine-dependent subjects. Furthermore, Krsmanovic *et al.* (1998) [44] reported that the stimulation of nicotinic receptors in hypothalamic neurons stimulates GnRH secretion. On the other hand, in a recent study, Wu *et al.* (2008) [23] demonstrated that the apparently increase of TT levels in smokers is due to a primary increase in SHBG levels with a compensatory rise in LH.

Although in this study we did not find any difference between smokers and non-smokers regarding the androgen levels evaluated, an effect of cigarette smoking on levels of reproductive hormones cannot be discarded, since cigarette smoke contains approximately 4.700 substances [45], including carcinogens and several other organic and inorganic compounds [46].

There are some controversial data regarding the potential influence of smoking habit and FT. In the present study, we observed similar levels of FT between smokers and non-smokers. Our results are supported by two large studies: one published by Field *et al.* (1994) [17], who studied 1241 men and another by Harman *et al.* (2001) [13], who analyzed 890 men. Regarding the bioavailable form of testosterone (BT), only two studies published in literature evaluated the effect of cigarette smoking on its levels [17,18]. Both of them found no significant difference in BT levels between smokers and non-smokers, even after adjusting for age and BMI, in agreement with the present study.

It is believed that 65 – 80% of circulating TT is inactive and tightly bound to SHBG [47]. Thus, changes in SHBG levels can affect TT levels. Some reports have demonstrated higher SHBG levels in smokers [17,18,22,23], while others

demonstrated similar values of SHBG between smoking and non-smoking men [10,12,14]. Analyzing our data, we also could not identify differences regarding SHBG levels between smoking and non-smoking men, even controlling for the considered confounders.

Although there are theories suggesting that some of the components of tobacco could potentially decrease the liberation of GnRH and, consequently, LH, the present evaluation did not find differences in LH levels between smokers and non-smokers, which is in line with most studies published so far [8,14,15,22]. In accordance to earlier reports [15,19,22], we found similar serum FSH levels in smokers and non-smokers. Although Trummer *et al.* (2001) [19] have also found similar serum FSH levels, the study was carried out in an infertility unit, so careful attention is recommended when specific population are analyzed, since potentially selection bias can be involved.

These conflicting results may be explained at least partially by differences in study designs (some are cross-sectional, others are case-control or longitudinal), by inadequate control of potential confounders [2] as well as inadequate methods to quantify tobacco exposure. For example, some studies are not adjusted for any confounders [9,11,14,15,19,23], while most studies have adjusted for age and BMI [7,10,17,18,20,21]. However, few studies have adjusted their results for alcohol intake [13,16,22], which is a potential factor that may influence hormone levels [48] causing hyperprolactinemia, a known factor that decreases testosterone synthesis [31,32].

To our knowledge, the present report is unique in investigating the association between cigarette smoking and male reproductive hormone levels using pack-years of smoking as a manner to quantify cumulative exposure to tobacco. Previous reports have adopted the number of cigarettes smoked per day as a method to quantify tobacco exposure. This method has been considered controversial and according to Bernaards *et al.* (2001) [24], pack-years of smoking are more confident method for estimating life-time tobacco exposure since it takes into account someone's complete smoking history. The differences in quantifying the amount of cigarette smoked in an individual's lifetime can determine differences in the results. For this reason, we believe that it is important to standardize pack-years of smoking in this sort of study.

Although the quantification of cigarette smoking in this study was strength, some limitations should be taken into account. In our study, both FT and BT were calculated from TT, SHBG and albumin using the Vermeulen's equation [36]. Although calculated FT is considered a reliable index of assayed FT [49], calculated BT is criticized for its great uncertainty [50]. Instead of calculating BT, it is recommended to measure BT using the ammonium sulfate precipitation method [49,50]. Unfortunately, this method was not available and is also expensive and not practical. In addition, we had no valid information on alcohol consumption, so we could not adjust for this confounder. Besides that, we could not adjust for dyslipidemia and hypertension due to weakening the statistical power. Another limitation is that information on smoking status was self-reported, which can result in a potential misclassification bias. Nevertheless, by categorizing pack-years of smoking into smoking groups, this misclassification bias is certainly reduced [24]. An important limitation is the small sample size after categorizing groups into pack-years of smoking. Lastly, our non-smoking group contained never-smokers and ex-smokers. However, if we exclude the latter from the analyses due to their tobacco exposure at some time in their lifetime, we will lose statistical power due to lack of sample size.

CONCLUSION

In summary, in this study, we found similar mean levels of serum TT, FT, BT, SHBG, LH and FSH between smokers and non-smokers, even after adjustment for potential confounding factors. Furthermore, no association between increased pack-years of smoking and increased risk for occurrence of low hormones and protein levels was observed. Further studies using pack-years of smoking as a way to quantify tobacco exposure should be performed in order to elucidate the influence of cigarette smoking on sex hormone levels, as well as to confirm or not our results.

Table 1: General characteristics of the sample of adult men

| Characteristics | n | General | Smokers | Non-smokers | P |
|--------------------------------------------|-----|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| | | Population | (n=90) | (n=165) | |
| Age (years) | 255 | 47.4±10.0 | 46.5±9.0 | 47.9±10.6 | 0.292 |
| Waist circumference (cm) | 255 | 96.4±10.6 | 94.9±11.0 | 97.2±10.3 | 0.099 |
| Hip circumference (cm) | 255 | 100.9±8.1 | 99.4±7.9 | 101.7±8.1 | 0.028 |
| Waist to hip ratio | 255 | 0.95±0.05 | 0.95±0.06 | 0.95±0.05 | 0.806 |
| Weight (kg) | 255 | 80.0±12.2 | 78.8±12.2 | 80.7±12.2 | 0.240 |
| Height (m) | 255 | 1.7±0.07 | 1.7±0.06 | 1.7±0.07 | 0.169 |
| Body mass index (kg/m ²) | 255 | 26.9± 3.5 | 26.3±3.8 | 27.3±3.3 | 0.034 |
| Systolic blood pressure (mmHg) | 255 | 124.5±13.3 | 122.0±10.0 | 125.0±14.0 | 0.026 |
| Diastolic blood pressure (mmHg) | 255 | 81.9±8.9 | 80.9±6.1 | 82.5±10.1 | 0.174 |
| Total testosterone (ng/dL) | 255 | 442.2±171.7 | 448.7±153.4 | 438.7±181.2 | 0.658 |
| Free testosterone (ng/dL) † | 254 | 9.6±3.8 | 9.7±3.5 | 9.5±3.9 | 0.640 |
| Bioavailable testosterone (ng/mL) † | 254 | 2.2±0.9 | 2.2±0.8 | 2.2±0.99 | 0.950 |
| Sex hormone binding globulin (nmol/L) † | 254 | 27.4 [19.8-40.1] | 29.9 [19.7-41.7] | 26.9 [19.7-38.9] | 0.452 |
| Luteinizing hormone (mIU/mL) | 255 | 4.3 [3.1-5.8] | 4.4 [3.4-5.8] | 4.2 [2.8-5.8] | 0.216 |
| Follicle stimulant hormone (mIU/mL) | 255 | 5.4 [3.7-7.6] | 5.5 [3.9-7.5] | 5.3 [3.6-7.6] | 0.710 |
| Prolactin (ng/mL) | 255 | 6.8 [5.4-9.7] | 6.1 [4.7-8.6] | 7.0 [5.6-10.4] | 0.006 |
| Glucose (mg/dL) ‡ | 254 | 93.0±36.9 | 90.8± 23.3 | 94.3±42.5 | 0.469 |
| Total cholesterol (mg/dL) †† | 253 | 187.9±43.7 | 184.7 ±42.9 | 189.7±44.2 | 0.385 |
| HDL-cholesterol (mg/dL) †† | 252 | 43.6±12.5 | 42.0±13.7 | 44.5±11.8 | 0.128 |
| LDL-cholesterol (mg/dL) ϕ | 243 | 113.0±38.4 | 113.3±39.9 | 112.8±37.7 | 0.920 |
| Triglycerides (mg/dL) ‡ | 254 | 138.0 [88.7-205.0] | 136.0 [87.0-186.0] | 140.0 [92.0-207.5] | 0.485 |
| Albumin (g/dL) | 255 | 4.3±0.6 | 4.3±0.5 | 4.4±0.6 | 0.154 |

Data are expressed as mean ± SD or as median [quartiles]

† Non-smokers n= 164

‡ Smokers n= 89

† Smokers n= 88

ϕ Smokers n= 84; non-smokers n= 159

Table 2: Means \pm Standard Deviation (SD) of hormones and protein levels according to pack-years of smoking and non-smokers in adult men

| Variable | Non-smokers n = 165 | Smokers (pack-years) | | | | P |
|---------------------|------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------|
| | | ≤ 10 n = 22 | 11-26 n = 23 | 27-44 n = 23 | ≥ 45 n = 22 | |
| TT (ng/dL) | 438.7 \pm 181.2 | 402.7 \pm 127.9 | 441.9 \pm 157.0 | 480.5 \pm 173.3 | 468.4 \pm 149.1 | 0.580 |
| FT (ng/dL) † | 9.5 \pm 3.9 | 9.5 \pm 3.7 | 9.3 \pm 3.5 | 9.7 \pm 3.6 | 10.40 \pm 3.5 | 0.869 |
| BT (ng/mL) † | 2.2 \pm 0.9 | 2.2 \pm 0.8 | 2.2 \pm 0.8 | 2.2 \pm 0.8 | 2.4 \pm 0.8 | 0.933 |
| SHBG (nmol/L)* † | 1.4 \pm 0.2 | 1.3 \pm 0.2 | 1.5 \pm 0.2 | 1.5 \pm 0.2 | 1.4 \pm 0.2 | 0.318 |
| LH (mUI/mL)* | 0.6 \pm 0.2 | 0.6 \pm 0.1 | 0.6 \pm 0.2 | 0.7 \pm 0.2 | 0.7 \pm 0.2 | 0.374 |
| FSH (mUI/mL)* | 0.7 \pm 0.3 | 0.7 \pm 0.2 | 0.7 \pm 0.2 | 0.7 \pm 0.3 | 0.8 \pm 0.3 | 0.772 |

*data were log transformed

P value obtained by ANOVA

† Non-smokers n=164

TT = Total testosterone; FT = Free testosterone; BT = Bioavailable testosterone; SHBG = sex hormone binding globulin;

LH = Luteinizing hormone; FSH = Follicle stimulant hormone

Table 3: Adjusted means \pm 95% CIs for mean of hormones and protein levels according to pack-years of smoking and non-smokers in adult men

| Variable | Non-smokers | Smokers (pack-years) | | | | P |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| | n = 165 | ≤ 10 n = 22 | 11-26 n = 23 | 27-44 n = 23 | ≥ 45 n = 22 | |
| TT (ng/dL) | 440.8 (416.2 to 465.4) | 405.0 (337.4 to 472.6) | 452.4 (386.1 to 518.7) | 457.9 (391.3 to 524.5) | 476.9 (408.0 to 545.8) | 0.648 |
| FT (ng/dL) † | 9.5 (8.9 to 10.0) | 9.4 (7.7 to 10.9) | 9.1 (7.5 to 10.6) | 9.9 (8.3 to 11.4) | 10.6 (9.0 to 12.3) | 0.677 |
| BT (ng/mL) † | 2.2 (2.1 to 2.4) | 2.2 (1.8 to 2.6) | 2.1 (1.7 to 2.4) | 2.2 (1.8 to 2.6) | 2.5 (2.0 to 2.8) | 0.740 |
| SHBG (nmol/L)* † | 27.9 (26.1 to 29.9) | 25.4 (21.0 to 30.7) | 33.2 (27.5 to 39.9) | 28.1 (23.3 to 33.8) | 28.3 (23.4 to 34.4) | 0.374 |
| LH (mUI/mL)* | 4.0 (3.7 to 4.3) | 4.1 (3.3 to 5.1) | 4.6 (3.8 to 5.7) | 4.5 (3.6 to 5.5) | 5.1 (4.1 to 6.4) | 0.196 |
| FSH (mUI/mL)* | 5.3 (4.9 to 5.9) | 5.4 (4.2 to 7.0) | 6.3 (4.9 to 8.1) | 4.6 (3.6 to 5.9) | 6.3 (4.8 to 8.2) | 0.359 |

* Means and 95% CIs were back transformed

P value obtained in ANCOVA model adjusted for potential confounding factors.

† Non-smokers n=164

TT = Total testosterone; FT = Free testosterone; BT = Bioavailable testosterone; SHBG = sex hormone binding globulin; LH = Luteinizing hormone; FSH = Follicle stimulant hormone

Table 4: Adjusted means \pm 95%CIs of hormones and protein levels according to the number of cigarettes smoked per day and non-smokers in adult men

| Variable | Number of cigarettes/day | | | | P |
|------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| | 0 n = 165 | 1-10 n = 20 | 11-20 n = 45 | \geq 20 n = 25 | |
| TT (ng/dL) | 440.8 (416.2 to 465.3) | 402.2 (331.8 to 472.5) | 457.4 (410.3 to 504.5) | 468.3 (403.8 to 532.9) | 0.507 |
| FT (ng/dL) † | 9.5 (8.9 to 10.0) | 9.4 (7.8 to 11.1) | 9.7 (8.6 to 10.8) | 10.0 (8.5 to 11.5) | 0.931 |
| BT (ng/mL) † | 2.2 (2.1 to 2.4) | 2.1 (1.7 to 2.5) | 2.2 (1.9 to 2.5) | 2.3 (1.9 to 2.6) | 0.971 |
| SHBG (nmol/L)* † | 27.9 (26.0 to 29.9) | 25.2 (20.8 to 30.8) | 29.9 (26.1 to 34.1) | 29.5 (24.6 to 35.4) | 0.518 |
| LH (mUI/mL)* | 4.0 (3.7 to 4.3) | 4.0 (3.2 to 4.9) | 4.7 (4.1 to 5.5) | 4.9 (4.0 to 5.9) | 0.109 |
| FSH (mUI/mL)* | 5.4 (4.9 to 5.9) | 5.5 (4.2 to 7.2) | 5.7 (4.7 to 6.8) | 5.6 (4.4 to 7.2) | 0.944 |

* Means and 95%CIs were back transformed

P value obtained in ANCOVA model adjusted for potential confounding factors.

† Non-smokers n=164

TT = Total testosterone; FT = Free testosterone; BT = Bioavailable testosterone; SHBG = sex hormone binding globulin; LH = Luteinizing hormone; FSH = Follicle stimulant hormone

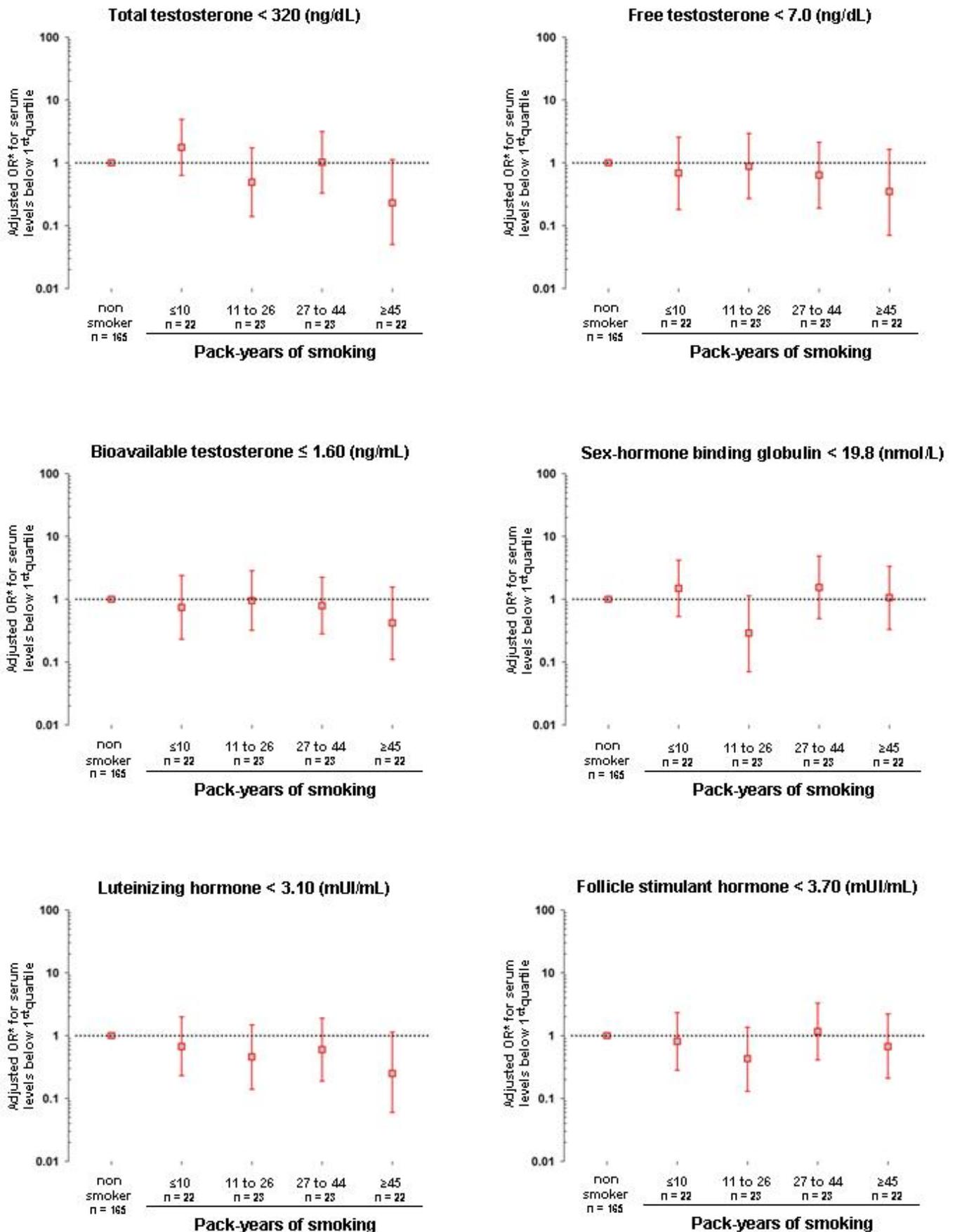


Figure 1 – Adjusted odds ratios for hormonal serum levels below 1st quartile obtained in a multiple logistic regression containing the following factors: age, fasting blood glucose, body mass index, waist to hip ratio, and prolactin

REFERENCES

- [1] World Health Organization. World Health Statistics 2008. WHO Press: Geneva 2008, 18pp. Available at: <http://www.who.int/whosis/whostat/en/>. Accessed in: August, 1st, 2008.
- [2] Vine MF. Smoking And Male Reproduction: A Review. *Int J Androl.* 1996;19: 323-37.
- [3] Chew KK, Bremner A, Stuckey B, Earle C, Jamrozik K. Is the Relationship Between Cigarette Smoking and Male Erectile Dysfunction Independent of Cardiovascular Disease? Findings from a Population-Based Cross-Sectional Study. *J Sex Med.* 2008 Aug 28. [Epub ahead of print].
- [4] Teles AG, Carreira M, Alarcão V, Aragüés JM, Lopes L, Mascarenhas M, Costa JG. Prevalence, Severity, and Risk Factors for Erectile Dysfunction in a Representative Sample of 3,548 Portuguese Men Aged 40 to 69 Years Attending Primary Healthcare Centers: Results of the Portuguese Erectile Dysfunction Study. *J Sex Med.* 2008;5: 1317-24.
- [5] Andersen I, Heitman BL, Wagner G. Obesity and Sexual Dysfunction in Younger Danish Men. *J Sex Med.* 2008;5: 2053-60.
- [6] Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Jensen MS, Toft G, Bonde JP. Is Smoking A Risk Factor For Decreased Semen Quality? A Cross-Sectional Analysis. *Hum Reprod.* 2007;22: 188-96.

- [7] Briggs MH. Cigarette-Smoking And Infertility In Men. *Med J Aust.* 1973;1: 616-17.
- [8] Shaarawy M, Mahmoud KZ. Endocrine Profile And Semen Characteristics In Male Smokers. *Fertil Steril.* 1982;38: 255-57.
- [9] Lindholm J, Winkel P, Brodthagen U, Gyntelberg F. Coronary Risk-Factors And Plasma Sex-Hormones. *Am J Med.* 1982;73: 648-51.
- [10] Barrett-Connor E, Khaw KT. Cigarette-Smoking And Increased Endogenous Estrogen-Levels In Men. *Am J Epidemiol.* 1987;126: 187-92.
- [11] Attia AM, Eldakhly MR, Halawa FA, Ragab NF, Mossa MM. Cigarette-Smoking And Male Reproduction. *Arch Androl.* 1989;23: 45-49.
- [12] Hautanen A, Manttari M, Kupari M, Sarna S, Manninen V, Frick MH, Adlercreutz H. Cigarette-Smoking Is Associated With Elevated Adrenal Androgen Response To Adrenocorticotropin. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1993;46: 245-51.
- [13] Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR. Longitudinal Effects Of Aging On Serum Total And Free Testosterone Levels In Healthy Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86: 724-31.
- [14] Richthoff J, Elzanaty S, Rylander L, Hagmar L, Giwercman A. Association Between Tobacco Exposure And Reproductive Parameters In Adolescent Males. *Int J Androl.* 2008;31: 31-39.

- [15] Saadat M. Serum levels of testosterone and gonadotropins with respect to smoking status and genetic polymorphism of *GSTT1*. *Mol Biol Rep*. 2008.
- [16] Dai WS, Gutai JP, Kuller LH, Cauley JA. Cigarette-Smoking And Serum Sex-Hormones In Men. *Am J Epidemiol*. 1988;128: 796-805.
- [17] Field AE, Colditz GA, Willett WC, Longcope C, Mckinlay JB. The Relation Of Smoking, Age, Relative Weight, And Dietary-Intake To Serum Adrenal-Steroids, Sex-Hormones, And Sex Hormone-Binding Globulin In Middle-Aged Men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79: 1310-16.
- [18] English KM, Pugh PJ, Parry H, Scutt NE, Channer KS, Jones TH. Effect Of Cigarette Smoking On Levels Of Bioavailable Testosterone In Healthy Men. *Clin Sci (Lond)*. 2001;100: 661-65.
- [19] Trummer H, Habermann H, Haas J, Pummer K. The Impact Of Cigarette Smoking On Human Semen Parameters And Hormones. *Hum Reprod*. 2002;17: 1554-59.
- [20] Ponholzer A, Plas E, Schatzl G, Struhal G, Brössner C, Mock K, Rauchenwald M, Madersbacher S. Relationship between testosterone serum levels and lifestyle in aging men. *Aging Male*. 2005;8: 190-93.
- [21] Corona G, Mannucci E, Petrone L, Ricca V, Mansani R, Cilotti A, Balercia G, Chiarini V, Giommi R, Forti G, Maggi M. Psychobiological Correlates Of Smoking In Patients With Erectile Dysfunction. *Int J Impot Res*. 2005;17: 527-34.

[22] Svartberg J, Jorde R. Endogenous Testosterone Levels And Smoking In Men. The Fifth Tromso Study. *Int J Androl.* 2007;30: 137-43.

[23] Wu FCW, Tajar A, Pye SR, Silman AJ, Finn JD, O'Neill TW, Bartfai G, Casanueva F, Forti G, Giwercman A, Huhtaniemi IT, Kula K, Punab M, Boonen S, Vanderschueren D, European Male Aging Study Group. Hypothalamic-Pituitary-Testicular Axis Disruptions In Older Men Are Differentially Linked To Age And Modifiable Risk Factors: The European Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93: 2737-45.

[24] Bornaards CM, Twisk JWR, Snel J, Van Mechelen W, Kemper HCG. Is Calculating Pack-Years Retrospectively A Valid Method To Estimate Life-Time Tobacco Smoking? A Comparison Between Prospectively Calculated Pack-Years And Retrospectively Calculated Pack-Years. *Addiction.* 2001; 96: 1653-61.

[25] Maderbacher S, Schatzl G, Bieglmayer C, Reiter WJ, Gassner C, Berger P, Zidek T, Marberger M. Impact Of Radical Prostatectomy And Turp On the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Hormone Axis. *Urology.* 2002; 60: 869-874.

[26] National Institutes of Health, Division of Nutrition and Physical Activity, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion's The practical Guide: Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. Available at: http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/obesity/prctgd_c.pdf Accessed in: January, 22nd, 2007.

[27] Rhoden EL, Ribeiro EP, Teloken C, Souto CAV. Diabetes Mellitus Is Associated With Subnormal Serum Levels Of Free Testosterone In Men. *BJU*. 2005;96: 867-70.

[28] Kapoor D, Aldred H, Clark S, Channer KS, Jones TH. Clinical And Biochemical Assessment Of Hypogonadism In Men With Type 2 Diabetes: Correlations With Bioavailable Testosterone And Visceral Adiposity. *Diabetes Care*. 2007;30: 911-17.

[29] Haffner SM, Valdez RA, Stern MP, Katz MS. Obesity, Body-Fat Distribution And Sex-Hormones In Men. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1993;17: 643-49.

[30] Abate N, Haffner SM, Garg A, Peshock RM, Grundy SM. Sex Steroid Hormones, Upper Body Obesity, And Insulin Resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87: 4522-27.

[31] Grattan DR, Jasoni CI, Liu XH, Anderson GM, Herbison AE. Prolactin Regulation Of Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons To Suppress Luteinizing Hormone Secretion In Mice. *Endocrinology*. 2007;148: 4344-51.

[32] Corona G, Mannucci E, Fisher AD, Lotti F, Ricca V, Balercia G, Petrone L, Forti G, Maggi M. Effect of hyperprolactinemia in male patients consulting for sexual dysfunction. *J Sex Med*. 2007, 4: 1485-93.

[33] Sepaniak S, Forges T, Gerard H, Foliguet B, Bene MC, Monnier-Barbarino P. The Influence Of Cigarette Smoking On Human Sperm Quality And Dna Fragmentation. *Toxicology*. 2006;223: 54-60.

[34] Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Gooren LJ, Kaufman JM, Legros JJ, Lunenfeld B, Morley JE, Schulman C, Wang C, Weidner W, Wu FCW, International Society of Andrology (ISA), International Society for the study of the aging male (ISSAM) European Association of Urology (EAU). Investigation, Treatment And Monitoring Of Late-Onset Hypogonadism In Males ISA, ISSAM, And EAU Recommendations. *Eur Urol.* 2005;48: 1-4.

[35] Friedewald WT, Fredrick DS, Levy RI. Estimation Of Concentration Of Low-Density Lipoprotein Cholesterol In Plasma, Without Use Of Preparative Ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18: 499-02.

[36] Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman Jm. A Critical Evaluation Of Simple Methods For The Estimation Of Free Testosterone In Serum. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84: 3666-72.

[37] Fuxe K, Andersson K, Eneroth P, Harfstrand A, Agnati LF. Neuro-Endocrine Actions Of Nicotine And Of Exposure To Cigarette-Smoke - Medical Implications. *Psychoneuroendocrinology.* 1989;14: 19-41.

[38] Kimura F, Shinohara K, Funabashi T, Et Al. Nicotine Inhibition Of Pulsatile GnRH Secretion Is Mediated By GABA(A) Receptor System In The Cultured Rat Embryonic Olfactory Placode. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;29: 749-56.

[39] Pomerleau OF. Endogenous opioids and smoking: A review of progress and problems. *Psychoneuroendocrinology.* 1998;23: 115-30.

[40] Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri RL. Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management. 4th ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999.

[41] Dong Q, Hardy MP. Leydig Cell Function in Man. In: Winters SJ, ed. Male Hypogonadism. Humana Press Inc: Totowa, 2004, 32pp.

[42] Yardimci S, Atan A, Delibasi T, Sunguroglu K, Guven MC. Long-Term Effects Of Cigarette-Smoke Exposure On Plasma Testosterone, Luteinizing Hormone And Follicle-Stimulating Hormone Levels In Male Rats. Br J Urol. 1997;79: 66-69.

[43] Mendelson JH, Sholar MB, Mutschler NH, Et Al. Effects Of Intravenous Cocaine And Cigarette Smoking On Luteinizing Hormone, Testosterone, And Prolactin In Men. J Pharmacol Exp Ther. 2003; 307: 339-48.

[44] Krsmanovic LZ, Mores N, Navarro CE, Saeed SA, Arora KK, Catt KJ. Muscarinic Regulation Of Intracellular Signaling And Neurosecretion In Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. Endocrinology. 1998;139: 4037-43.

[45] Wooten JB, Chouchane S, McGrath TE. Tobacco Smoke Constituents Affecting Oxidative Stress. In: Halliwell BB, Poulsen HE, ed. Cigarette Smoke And Oxidative Stress. Springer: Berlin, 2006, 6pp.

[46] Hoffmann D, Hoffmann I, El-Bayoumy K. The Less Harmful Cigarette: A Controversial Issue. A Tribute to Ernst L. Wynder. Chem Res Toxicol. 2001;14: 767-90.

[47] Kapoor D, Jones TH. Smoking And Hormones In Health And Endocrine Disorders. *Eur J Endocrinol.* 2005;152: 491-99.

[48] Emanuele MA, Emanuele N. Alcohol And The Male Reproductive System. *Alcohol Res Health.* 2001;25: 282-87.

[49] Carruthers M, Trinick TR, Wheeler MJ. The Vallidity Of Androgen Assays. *Aging Male.* 2007;10: 165-72.

[50] Giton F, Fiet J, Guechot J, Ibrahim F, Bronsard F, Chpin D, Raynaud JP. Serum Bioavailable Testosterone: Assayed Or Calculated? *Clin Chemi.* 2006; 52:474-81.

CONCLUSÕES DO ESTUDO

O presente estudo demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa nos valores médios de TT, FT, BT, SHBG, LH e de FSH de fumantes quando comparados com não-fumantes, mesmo ajustando os dados para possíveis fatores de confusão, tais como idade, índice de massa corporal, relação cintura-quadril, glicemia e prolactina. Além disso, nenhuma associação foi observada entre o aumento do *pack-years of smoking* e o aumento do risco de ocorrência de valores subnormais de andrógenos, de gonadotrofinas e de SHBG.

APÊNDICES

Apêndice 1 – Termo de consentimento

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

JUSTIFICATIVA/OBJETIVOS

O hábito de fumar é considerado um problema de caráter mundial. Aproximadamente, 1,3 bilhões de pessoas fumam, sendo que cerca de 1 bilhão são homens e 250 milhões são mulheres. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o cigarro é considerado o quarto maior causador de doenças no mundo e acredita-se que, aproximadamente, 500 milhões de indivíduos ainda morrerão devido a alguma doença relacionada ao consumo de cigarro.

Entre as doenças causadas pelo consumo do mesmo, podemos citar alguns tipos de câncer, como o de pulmão, o de estômago, de boca, de esôfago, nos lábios, na garganta, entre outros. Além do câncer, o cigarro pode causar bronquite crônica, enfisema pulmonar, doenças cardiovasculares, aumenta o risco de osteoporose, antecipa a menopausa, causa disfunção erétil em homens e causa problemas de fertilidade em ambos os sexos.

Nos homens, a infertilidade pode estar associada a mudanças nos parâmetros quantitativos e qualitativos do esperma, além de alterações hormonais. Essas alterações hormonais podem estar aumentadas, diminuídas ou até mesmo ausentes conforme descrito anteriormente em outros estudos.

Por isso, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do hábito de fumar nas concentrações séricas dos hormônios sexuais masculinos, tais como hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo-estimulante (FSH), testosterona total e testosterona biodisponível, para que haja um maior esclarecimento quanto ao efeito prejudicial do hábito tabágico sobre os níveis séricos de andrógenos.

Fica garantido ao paciente:

- Direito de anonimato e privacidade;
- Não será injetado nenhum tipo de medicamento;
- Todos os tipos de materiais utilizados para as coletas serão descartáveis e abertos na presença do paciente;
- Será entregue ao paciente um laudo assinado por profissional habilitado e lacrado com o resultado do seu exame.
- O paciente poderá não disponibilizar ou cancelar a autorização dos dados obtidos pelos exames caso for de sua vontade a qualquer momento.

Como será realizada uma coleta sanguínea, poderá haver dor e hematomas no local da punção.

AUTORIZAÇÃO

“Eu, _____ obtive acesso a todas as informações necessárias descritas acima que li ou foram lidas para mim, descrevendo a importância da utilização destes dados para o enriquecimento científico e acadêmico.

Ficaram claros para mim os propósitos deste estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos e a garantia de anonimato e confidencialidade sobre meu nome e dados obtidos.

Declaro também que recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido.

Minha assinatura neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dará autorização a utilização de todos os dados obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando minha integridade e privacidade “.

Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, posso chamar **Grazielle Halmenschlager**, pelo telefone (51) **92016679** ou **Dr. Ernani Luis Rhoden**, pelo telefone **99616891**. Para qualquer pergunta sobre os meus direitos como participante deste estudo ou se penso que fui prejudicado pela minha participação, posso chamar o Comitê de Ética em Pesquisa da UFCSPA, pelo telefone (51) 3303-8822, localizado na Rua Sarmento Leite, 245, Porto Alegre, RS.

Canoas, _____ de _____ de 200__.

Ass. do paciente

Ass. do pesquisador

Ass. da testemunha

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

JUSTIFICATIVA/OBJETIVOS

O hábito de fumar é considerado um problema de caráter mundial. Aproximadamente, 1,3 bilhões de pessoas fumam, sendo que cerca de 1 bilhão são homens e 250 milhões são mulheres. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o cigarro é considerado o quarto maior causador de doenças no mundo e acredita-se que, aproximadamente, 500 milhões de indivíduos ainda morrerão devido a alguma doença relacionada ao consumo de cigarro.

Entre as doenças causadas pelo consumo do mesmo, podemos citar alguns tipos de câncer, como o de pulmão, o de estômago, de boca, de esôfago, nos lábios, na garganta, entre outros. Além do câncer, o cigarro pode causar bronquite crônica, enfisema pulmonar, doenças cardiovasculares, aumenta o risco de osteoporose, antecipa a menopausa, causa disfunção erétil em homens e causa problemas de fertilidade em ambos os sexos.

Nos homens, a infertilidade pode estar associada a mudanças nos parâmetros quantitativos e qualitativos do esperma, além de alterações hormonais. Essas alterações hormonais podem estar aumentadas, diminuídas ou até mesmo ausentes conforme descrito anteriormente em outros estudos.

Por isso, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do hábito de fumar nas concentrações séricas dos hormônios sexuais masculinos, tais como hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo-estimulante (FSH), testosterona total e testosterona biodisponível, para que haja um maior esclarecimento quanto ao efeito prejudicial do hábito tabágico sobre os níveis séricos de andrógenos.

Fica garantido ao paciente:

- Direito de anonimato e privacidade;
- Não será injetado nenhum tipo de medicamento;
- Todos os tipos de materiais utilizados para as coletas serão descartáveis e abertos na presença do paciente;
- Será entregue ao paciente um laudo assinado por profissional habilitado e lacrado com o resultado do seu exame.
- O paciente poderá não disponibilizar ou cancelar a autorização dos dados obtidos pelos exames caso for de sua vontade a qualquer momento.

Como será realizada uma coleta sanguínea, poderá haver dor e hematomas no local da punção.

AUTORIZAÇÃO

“Eu, _____ obtive acesso a todas as informações necessárias descritas acima que li ou foram lidas para mim, descrevendo a importância da utilização destes dados para o enriquecimento científico e acadêmico.

Ficaram claros para mim os propósitos deste estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos e a garantia de anonimato e confidencialidade sobre meu nome e dados obtidos.

Declaro também que recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido.

Minha assinatura neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dará autorização a utilização de todos os dados obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando minha integridade e privacidade “.

Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, posso chamar **Grazielle Halmenschlager**, pelo telefone (51) **92016679** ou **Dr. Ernani Luis Rhoden**, pelo telefone **99616891**. Para qualquer pergunta sobre os meus direitos como participante deste estudo ou se penso que fui prejudicado pela minha participação, posso chamar o Comitê de Ética em Pesquisa da UFCSPA, pelo telefone (51) 3303-8822, localizado na Rua Sarmento Leite, 245, Porto Alegre, RS.

Nova Santa Rita, _____ de _____ de 200__.

Ass. do paciente

Ass. do pesquisador

Ass. da testemunha

Apêndice 2 – Aprovação do projeto no comitê de ética

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO FACULDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE PORTO ALEGRE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
APROVADO PELA CARTA Nº 880/2004-CONEP/CNS/MS
RUA SARMENTO LEITE, 245 – FONE: (51) 3224.8822
CEP 90050-170 – PORTO ALEGRE – RS - cep@ffcmpa.edu.br

Of. 420/07-CEP

Porto Alegre, 08 de março de 2007.

Ilmo. Sr.

Prof. Ernani Luis Rhoden

Nesta Faculdade

Senhor Professor

Informamos que seu projeto intitulado “Influência do Hábito de Fumar nos Níveis Séricos dos Hormônios Sexuais Masculinos.”, Processo nº 180/06, foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, na reunião de 08 de março de 2007, sendo o projeto aprovado, conforme parecer consubstanciado nº 357/07, em anexo.

Outrossim, informamos que de acordo com o Art. 4º, letra c, do Regulamento do CEP, V. Sa. deverá nos encaminhar relatórios semestrais do desenvolvimento do projeto.

Atenciosamente,

José Geraldo Vernet Taborda
Coordenador do CEP/FFFCMPA

Aprovação do adendo do projeto no comitê de ética

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
RUA SARMENTO LEITE, 245 – FONE: (51) 33038804
CEP 90050-170 – PORTO ALEGRE – RS - cep@ufcspa.edu.br

Of. 621/08-CEP

Porto Alegre, 14 de agosto de 2008

Ilmo. Sr.
Prof. Ermani Rhoden
Nesta Universidade

Prezado Pesquisador

Informamos que seu projeto “Influência no hábito de fumar nos níveis séricos dos hormônio sexuais masculinos”, Processo nº 180/06, foi avaliado pelo Comitê de Ética e Pesquisa, na reunião do dia 14 de agosto de 2008, sendo o projeto considerado aprovado, conforme parecer consubstanciado nº 667/08, anexo.

Outrossim, informamos que de acordo com o art. 4º, letra c do Regulamento do CEP, V.Sa. deverá nos encaminhar relatórios semestrais do desenvolvimento do projeto.

Atenciosamente,

Prof. José Geraldo Vernet Taborda
Coordenador do CEP/UFCSPA

Apêndice 3 – Carta de aceite do editor do *The Journal of Sexual Medicine* para publicação do artigo.

02-Dec-2008

Dear Miss Halmenschlager:

CONGRATULATIONS!!!

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Evaluation of the effects of cigarette smoking on testosterone levels in adult men" in its current form for publication in the Journal of Sexual Medicine.

You MUST now complete two important tasks (if you have not already done so):

- (1) Ensure all Copyright Assignment Forms are returned to the Editorial Office
- (2) Complete the Statement of Authorship form

You must now ensure that EVERY author of this manuscript signs and returns, either by mail or fax, the JSM Copyright Assignment Form. Failure to do so will mean your manuscript will not be published. Each author in signing the form agrees that they have contributed to the paper and have approved the manuscript before submission. A copy of the form is attached to this email.

Completion of the Copyright Assignment Form is a critical task and I urge you to attend to it as a priority matter. In the meantime, to speed the publication process up, could I request that you, as the corresponding author, print, sign and fax a copy of the Copyright Assignment Form to the editorial office fax at (+1) 508-747-9603.

Please note that there are charges associated with the publication of color figures. If you have submitted color figures, please download, complete, and return the color agreement form.

As the Corresponding Author you must also ensure a signed copy of the attached Statement of Authorship form is completed. Failure to return this form, or the return of an incomplete form, will result in the delayed publication of your manuscript.

You can now track the production of your article using Blackwell Publishing's Author Services. With Author Services, you can check the status of your article online, choose to receive automated e-mails at key stages of production, and receive free access to your article. When your article has been submitted to Blackwell Publishing, you will receive an e-mail with a unique code that automatically adds your article to the system when you register. Additional services soon will be added to the website.

The Journal of Sexual Medicine is included in the electronic service, "e-proofing". When your typeset article is ready for review, you will receive an email from the e-proofing system. This email will include instructions for accessing your article and for contacting the proofreader with corrections. Please be sure to read the instructions carefully.

Every corresponding author will receive one gratis PDF offprint for their manuscript, which will be Emailed to them once the article is finalized. An article reprint order form is available on the e-proofing webpage.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Journal of Sexual Medicine, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Irwin Goldstein, MD

Editor in Chief, Journal of Sexual Medicine - jsm@issm.info

Apêndice 4 – Especificações da revista *The Journal of Sexual Medicine*

The Journal of Sexual Medicine

Basic Research and Clinical Studies in Male and Female Sexual Function and Dysfunction

The Official Journal of the International Society for Sexual Medicine and the International Society for the Study of Women's Sexual Health

Edited by:

Irwin Goldstein

Print ISSN: 1743-6095

Online ISSN: 1743-6109

Frequency: Monthly

Current Volume: 5 / 2008

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2007: 2/55 (Urology & Nephrology)

Impact Factor: 6.199

Authors Guidelines:

Instructions to Authors:

Please submit all manuscripts for *The Journal of Sexual Medicine* online at <http://mc.manuscriptcentral.com/jsm>. Complete, detailed instructions on uploading your manuscript are available at this website. Any major word processor software may be used, and both DOS-based and Macintosh operating systems are acceptable. In addition, a signed copyright agreement form (available at **JSM Copyright Assignment**) must be completed and sent to:

Jason Roberts
Managing Editor, JSM
36 Old Mill Lane
Plymouth, MA 02360, USA
Fax: 508-747-9603
Phone: 617-417-6269
Email: jsm@issm.info

Authors will be required to assign copyright in their papers. Copyright assignment is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned.

Manuscripts must be in English, with spelling and phrasing consistent throughout the paper, conforming to either standard English or American usage. In order for a manuscript to be considered for publication all named authors must agree 1) to its submission, 2) that it is not currently being considered for publication by another journal, and 3) if accepted the paper will not

subsequently be published in the same or similar form in any language without the written consent of the publisher.

Ethics

All manuscripts reporting experiments on animal or human subjects must explicitly indicate that the work was carried out in accordance with the ethical standards of the responsible institutional committee on animal or human experimentation or with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983.

All Manuscripts

The online submission site will ask for the title, running title, first and last name of each author, name of the department(s) and institution(s) from which the work is attributed, disclaimers if appropriate, and contact information for the designated corresponding author including name, address, telephone, fax number and e-mail as well as acknowledgements of financial support and conflict of interest. There will also be an area for acknowledgements, but this is not mandatory.

The cover letter must include the names and contact information for all authors, **but no names or institutions should be mentioned within the body of the manuscript in order to ensure a blind review process.** This information may be reinserted before publication, along with any acknowledgements.

Each manuscript must contain: introduction, aims, methods, main outcome measures, results, discussion, conclusions and references.

Original Research

Original research papers are scientific reports from original research in sexual medicine. As a general guideline, manuscripts should be 3,000 words in length though more extensive manuscripts will certainly be considered and judged on merit. All manuscripts must include an abstract, a maximum of 7 tables and figures (total), and up to 50 references. More may be accepted if justified.

Reports

Case Reports usually describe one to three patients with pertinent conditions. Brief Reports are concise reports of cases, clinical experience, clinical studies, drug trials, adverse effects, or devices related to sexual medicine. Maximum length of text is 1,750 words; no more than 10 bibliographic references and one figure or table per case.

Review Articles

Review articles in sexual medicine are usually solicited by the editors. The text should be approximately 5,000 words, with an abstract, a maximum of 7 tables and figures (total), and up to 75 references. More may be accepted if justified. Review articles undergo the same peer-review and editorial process as all other manuscripts submitted to the journal.

Editorial Comment

Editorials providing commentary and analysis of an article in the particular issue of the journal are always solicited. Authors of the original paper will be given opportunity to respond to the editorial comment in the same issue. Editorial comments are limited to 1,000 words, with up to 7 references.

Letters to the Editor

Letters to the Editor, subject to editing, are considered for publication provided they do not contain material submitted or published elsewhere. The text must not exceed 500 words or have more than five references and one figure or table. Letters referring to a published article must be received within four months of the article's publication.

Calendar

This is a section in the back of the journal for news and meeting announcements from ISSIR and its Regional Affiliate Societies, as well as other appropriate meeting announcements. Please send contributions to this section directly to jsm@issir.org.

Abstracts

Abstracts must be submitted in the appropriate field without the manuscript title or factors identifying the authors or institutions. Abstracts have a 300- word limit. They must include introduction, aim, methods, main outcome measures, results and conclusions. Please type N/A in the abstract field for letters.

References

References are to be cited consecutively in the text as superscript numbers typed after the final punctuation. References at the end of each manuscript should be listed in the order in which they are first cited in the text, typed double-spaced. The references should conform to the Index Medicus style, omitting number and day of month of issue. Punctuation is shown in the examples below. References to articles in press must state name of journal and if possible, volume and year.

For journal articles, all authors should be listed, title of article; name of journal; year; volume number; first and last page.

For books: surname and initials of all authors, title and subtitle, edition (other than first), publishing house, city, year, page as specific reference.

For chapters in books: surname and initials of all authors of chapter, title of chapter, editors, authors, or compilers of book, title of book, edition (other than first), publishing house, city, year, page

1. Jones, TH, Smith, ML, Land SW. Diagnosis and treatment of erectile dysfunction. *J Urol* 1986;135:922-927.
2. King, RE. Sexual dysfunction in men and women. Taylor and Francis: Philadelphia 1974, 86pp.
3. Stevens RA, Otis PN. Persistent sexual arousal syndrome. In: Johnson DA, ed. Female sexual dysfunction.. Little Brown and Company: Boston, 1976, pp 100-106.

Abbreviations, symbols and nomenclature

A list of acceptable abbreviations is published in the Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals (also known as the Declaration of Vancouver). For more information, refer to:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Intern Med* 1997;126:36-47.

You may contact the Editor or publisher directly with questions.

Only generic names of drugs may be used. Quantitative data must be reported in SI units.

Please note that Word 2007 is not yet compatible with journal production systems. Unfortunately, the journal cannot accept Microsoft Word 2007 documents until such time as a stable production version is released. Please use Word's 'Save As' option therefore to save your document as an older (.doc) file type.

Artwork Guidelines

There are three preferred formats for digital artwork submission: Encapsulated PostScript (EPS), Portable Document Format (PDF), and Tagged Image Format (TIFF). We suggest that line art be saved as EPS files. Alternately, these may be saved as PDF files at 600 dots per inch (dpi) or better at final size. Tone art, or photographic images, should be saved as TIFF files with a resolution of 300 dpi at final size. For combination figures, or artwork that contains both photographs and labeling, we recommend saving figures as EPS files, or as PDF files with a resolution of 600 dpi or better at final size. More detailed information on the submission of electronic artwork can be found at www.blackwellpublishing.com/authors/digill.asp

Tables and Figures - House Style

Tables should be typed double-spaced on separate pages with number and title. Symbols for units should be confined to column headings. All tables and

figures must be original for original research. If a table or figure has been published before, written permission must be given by the owner for its reproduction.

Color illustrations Authors may publish one color image per article free of charge. Any other color figures published within the same article will be charged to the author at \$800 per image.

Proofs

Proofs will be sent as portable document format (PDF) attachments by email. Full instructions will accompany them.

Getting Help

If you need additional help you can write the managing editor at jsm@issm.info.

NEW: Online production tracking is now available for your article through Blackwell's Author Services.

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit www.blackwellpublishing.com/bauthor for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)