

FABIANO HADDAD BRANDÃO

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO EPITÉLIO OLFATÓRIO DE  
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO FUMO PASSIVO EM TEMPO E  
QUANTIDADES VARIÁVEIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, para obtenção do título de mestre em Medicina.

São Paulo  
2009

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

FABIANO HADDAD BRANDÃO

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO EPITÉLIO OLFATÓRIO DE  
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO FUMO PASSIVO EM TEMPO E  
QUANTIDADES VARIÁVEIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, para obtenção do título de mestre em Medicina.

**Orientador:**

Professor Dr. Lídio Granato

**Área de concentração:**

Otorrinolaringologia

São Paulo  
2009

FABIANO HADDAD BRANDÃO

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO EPITÉLIO OLFATÓRIO DE  
CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO FUMO PASSIVO EM TEMPO E  
QUANTIDADES VARIÁVEIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, para obtenção do título de mestre em Medicina.

**Orientador:**

**Professor Dr. Lídio Granato**

Professor Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

São Paulo  
2009

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
**Preparada pela Biblioteca Central da**  
**Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**

Brandão, Fabiano Haddad

Avaliação histológica do epitélio olfatório de camundongos submetidos ao fumo passivo em tempo e quantidades variáveis./ Fabiano Haddad Brandão. São Paulo, 2009.

Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Curso de Pós-Graduação em Medicina.

Área de Concentração: Otorrinolaringologia

Orientador: Lídio Granato

1. Tabagismo 2. Poluição por fumaça de tabaco 3. Olfato 4. Mucosa olfatória 5. Histologia 6. Camundongos

BC-FCMSCSP/64-09

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me ensinar que a vida se renova a cada respiração.

À Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, Instituição de grande respeito e fundamental para o desenvolvimento da saúde nacional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo incentivo às pesquisas e aos pesquisadores nacionais, que tanto sofrem para desenvolver seus trabalhos, pela bolsa de estudo para a realização desta dissertação.

Ao Professor Dr. Lídio Granato, orientador deste trabalho, homem de extrema paciência e sabedoria.

Ao Professor Dr. Fernando de Andrade Quintanilha Ribeiro, coordenador da Pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, pela oportunidade de fazer o Mestrado nesta Instituição.

Ao Professor Dr. Henrique Olival Costa, ex-coordenador da Pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, pela oportunidade de fazer o Mestrado nesta Instituição.

Ao Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, por ter me acolhido para realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Moacyr Pezati Rigueiro, por nos ajudar com seus conhecimentos em anatomia patológica, sem os quais não seria possível a realização desta obra.

À Professora Dra. Maria Rosa Machado de Souza Carvalho, por ter me incentivado a realizar a pós-graduação.

Aos meus pais, pelo carinho e pela esperança depositados em mim.

À senhorita Roberta Resende Ribeiro, por me ajudar e estar sempre ao meu lado.

Ao senhor Paulo Afonso Silva, pela ajuda técnica na normatização deste trabalho.

## ABREVIATURAS

a.C.	Antes de Cristo
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
cm	Centímetros
IARC	<i>International Association on Research on Cancer</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgE	Imunoglobulina E
INCA	Instituto Nacional do Câncer
Min	Minutos
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
PTA	Poluição Tabagística Ambiental
Rev	Revista
SUNY	State University of New York

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Revisão da Literatura.....	3
1.1.1. Mucosa nasal .....	3
1.1.2. Fisiologia da olfação.....	5
1.1.3. Metaplasia epitelial.....	5
1.1.4. Tabagismo e epitélio da mucosa nasal .....	6
2. OBJETIVOS .....	11
3. MATERIAL E MÉTODO .....	12
4. RESULTADOS .....	18
4.1. Camundongos expostos a dez cigarros por dia.....	20
4.2. Camundongos expostos a 20 cigarros por dia .....	21
5. DISCUSSÃO .....	23
6. CONCLUSÃO.....	30
7. ANEXOS .....	31
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	39
FONTES CONSULTADAS.....	42
RESUMO .....	43
ABSTRACT .....	44
9. APÊNDICE .....	45

## 1. INTRODUÇÃO

O tabaco disseminou-se pelo mundo a partir das Américas; sabe-se que havia plantações em todo o continente americano. Historicamente, presume-se que sua utilização iniciou-se no ano 1.000 a.C, mas não há relatos exatos a esse respeito. Primitivamente, era feita na forma de aspiração do fumo do tabaco por índios espalhados pelo continente americano, para realização de rituais sagrados. O primeiro contato do mundo civilizado deveu-se a Colombo, no século XVI, e a Jean Nicot, que o levaram para a Europa (Edições Natureza, 2007).

O cigarro, como é conhecido atualmente, surgiu em meados do século XIX na Espanha, porém, nesse país já se fumava tabaco enrolado em papel, que levava o nome de *papelete*. O termo *cigarillo* tem origem espanhola e, provavelmente, provém de *cigarral*, que significa “plantações invadidas por cigarras”. O nome se espalhou pelo mundo, sendo *cigarrete* em inglês, francês e em outras línguas; *sigaretta* em italiano; e *zigarette* em alemão. Paris foi invadida pelo cigarro em 1860 e os Estados Unidos da América em 1880, quando foram inventadas as primeiras máquinas de manufaturar cigarro em larga escala, no entanto a explosão global de consumo ocorreu após a 1ª Guerra Mundial (1914-1918), sendo, nesse período, consumido quase que exclusivamente por homens, atingindo a população feminina somente após a 2ª Guerra Mundial (Edições Natureza, 2007).

Atualmente, existem 4.720 substâncias conhecidas encontradas no cigarro, todas lesivas para os tabagistas ativos e passivos. As mais conhecidas são:

1. nicotina: é o principal agente farmacológico do tabaco, responsável por viciar o consumidor. É um dos mais tóxicos venenos de efeito rápido;

2. alcatrão: substância particulada composta por uma variedade de produtos orgânicos e inorgânicos (oxigênio, nitrogênio, hidrogênio, dióxido de carbono e monóxido de carbono) e muitos compostos voláteis e semivoláteis e substâncias carcinogênicas;

3. monóxido de carbono: entre os muitos malefícios causados no organismo, o principal é a dificuldade de transportar oxigênio para os diferentes órgãos do corpo;

4. amônia: agente cáustico que alcaliniza a fumaça do cigarro e com isso favorece a absorção de nicotina pelo usuário; e

5. componentes radioativos: têm-se como exemplos o carbono 14, o polônio 210, o urânio e outros, todos altamente cancerígenos.

Define-se por tabagismo passivo a inalação de derivados do tabaco (cigarro, charuto, cachimbo e outros produtores de fumaça) por indivíduos não fumantes que convivam com fumantes em locais fechados. A fumaça de derivados do tabaco é chamada de poluição tabagística ambiental (PTA). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o tabagismo passivo é a terceira maior causa de morte evitável no mundo, ficando atrás do tabagismo ativo e do consumo exagerado de álcool (Surgeon General, 1986; IARC, 1987).

O ar poluído tem, em média, três vezes mais nicotina e monóxido de carbono e até 50 vezes mais substâncias cancerígenas que a fumaça inalada através do filtro do cigarro, pelo fumante. A PTA é composta principalmente pela fumaça exalada pelo fumante (corrente primária) e pela fumaça expelida na ponta do cigarro (corrente secundária), sendo esta a maior contribuinte. Ela é formada em 96% do tempo da queima do cigarro; substâncias como nicotina, monóxido de carbono, nitrosaminas, amônia, benzeno e outros carcinógenos estão em maior concentração nessa corrente porque não são filtradas e os cigarros queimam em baixas temperaturas, levando à combustão incompleta das substâncias (Edições Natureza, 2007). Em 1998, o INCA analisou cinco diferentes marcas de cigarros nacionais e constatou níveis duas vezes maiores de alcatrão, 4,5 vezes maiores de nicotina, 3,7 vezes maiores de monóxido de carbono e 791 vezes mais amônia na corrente secundária, comparada com a corrente primária. A amônia alcaliniza a fumaça do cigarro, contribuindo para a maior absorção de nicotina pelos fumantes, o que aumenta sua dependência, e é também o principal irritante da fumaça do cigarro (Ministério da Saúde 1998; INCA, 1998).

No período de 1998 e 1999, o Ministério da Saúde considerou o tabagismo a principal causa de morte evitável existente e estima que um terço da população mundial adulta (1,2 bilhão de pessoas) seja adepta ao consumo do cigarro. Pesquisas deste órgão estimam que 47% dos homens e 12% da população feminina de todo o mundo sejam fumantes.

No Brasil, estima-se que existam 16,7 milhões de homens e 11,2 milhões de mulheres tabagistas; destes, 90% ficaram dependentes da nicotina entre 5 e 19 anos (2,8 milhões de fumantes nesta faixa etária). A maioria dos fumantes tem entre 20 e 49 anos, e com maior proporção de homens em todas as faixas etárias; o número de mulheres fumantes cresce principalmente nas faixas mais jovens. Estima-se ainda que no Brasil ocorram 200.000 mortes por ano em consequência do consumo do cigarro (OPAS, 2002).

O total de mortes no mundo devido ao consumo de cigarro é de 4,9 milhões por ano, correspondendo a mais de 10 mil mortes/dia, atingindo principalmente indivíduos em idade produtiva (35 a 69 anos) (Organização Mundial de Saúde, 2003).

O olfato é um dos componentes do Sistema Sensorial Especial, juntamente com a visão, o tato, a audição e o paladar. Tem no nariz sua sede receptora, mais precisamente nas regiões mais altas das cavidades nasais, onde se encontra um tecido específico que leva o nome de epitélio olfatório (Malaty et al., 1970; Henriques et al., 2007).

O sentido do olfato é absolutamente essencial para os mamíferos. É pelo cheiro, por exemplo, que os bebês aprendem a localizar as mamas da mãe para conseguir leite. Mais tarde, a memória olfativa permite reações emocionais intensas, evitando, por exemplo, o consumo de alimentos potencialmente tóxicos (Henriques et al., 2007).

Existem poucos estudos sobre o malefício que o cigarro causa na olfação. Em 1966, o Serviço de Saúde Pública Americano sugeriu que o tabaco fosse prejudicial à olfação, porém somente no final da década de 1980 esta relação foi estabelecida por Frye et al. (1989), que mostraram que a perda da capacidade de diferenciar odores está relacionada à dose e ao tempo de exposição em fumantes atuais e em ex-fumantes.

Pesquisas têm demonstrado de forma clara os graves prejuízos provocados pelo tabagismo, no entanto seu uso continua a aumentar globalmente, apesar da grande divulgação da mídia (Cavalcante, 2005).

## **1.1. Revisão da Literatura**

### *1.1.1. Mucosa nasal*

Em 1946, Kelemem e Sargent descreveram a anatomia das cavidades nasais de ratos. Primeiramente identificaram e separaram as regiões vestibulares e as cavidades nasais propriamente ditas. Estas são divididas igualmente em sentido vertical por um septo e possuem as narinas como porta de entrada. Os ratos apresentam também os seios maxilares e

as conchas nasais. O epitélio é do tipo pseudoestratificado cilíndrico ciliado. Katz (1974) mostrou que existem ainda três tipos de epitélios nas cavidades nasais dos ratos: epitélio pavimentoso estratificado, epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (tipo respiratório) e um epitélio olfatório. Estes se dispõem na cavidade nasal em sentido antero-posterior, com o epitélio olfatório em uma posição mais superior.

Segundo Young (2007), esse epitélio, que se apresenta de forma extensa em alguns mamíferos, nos seres humanos tem uma pequena extensão. É do tipo pseudoestratificado cilíndrico e é composto por três tipos celulares: células receptoras olfatórias, células epiteliais de sustentação (sustentaculares) e células epiteliais basais. As células olfatórias são neurônios bipolares que têm seus corpos celulares situados na região intermediária do epitélio olfativo, com um único prolongamento dendrítico que se estende do corpo celular até a superfície livre, onde termina em uma pequena dilatação chamada botão olfatório; este origina aproximadamente 12 longos cílios extremamente especializados. Esses cílios olfativos não são móveis e ficam achatados contra a superfície epitelial da camada mucosa superficial. Nesses cílios ocorre a interação entre as substâncias odoríferas e os receptores. Na camada basal, cada célula receptora origina um axônio delgado amielínico, que atravessa a membrana basal para se juntar a axônios de outras células do mesmo tipo.

O autor descreveu também que as células sustentaculares são alongadas, com base estreita que se apoiam sobre a membrana basal. Muitos microvilos longos se estendem a partir de suas superfícies luminiais para formar um emaranhado com os cílios das células receptoras. Na superfície luminal, as membranas plasmáticas das células sustentaculares e receptoras são unidas por complexos juncionais típicos. Suas funções são pouco conhecidas, porém provavelmente forneçam suporte mecânico e fisiológico para as células receptoras. As células basais são pequenas células de formato cônico, que parecem ser células totipotentes para transformação em uma das células citadas anteriormente. Ele ainda relata que dificilmente se consegue diferenciar os tipos celulares do epitélio olfatório em cortes histológicos, todavia os núcleos das células de sustentação ocupam posição mais superior, enquanto os núcleos das células receptoras a posição intermediária e as células basais apresentam seus núcleos na região próxima à membrana basal.

Segundo o autor, o epitélio olfatório apresenta ainda um tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado, que contém feixes de fibras nervosas aferentes e numerosas glândulas serosas, chamadas glândulas de Bowman, responsáveis por produzirem as secreções aquosas superficiais onde as substâncias odorantes serão dissolvidas.

### *1.1.2. Fisiologia da olfação*

Mais recentemente, Guyton (1998) e Holley (2000) voltaram a relatar que o olfato depende do epitélio olfatório, localizado bilateralmente nas regiões mais superiores das cavidades nasais. As células olfativas são em grande número e agem como receptores neurais – elas projetam microvilosidades (cílios), acima do plano da superfície apical, para o muco. Os cílios são responsáveis por detectar os diferentes odores.

Constataram que os odores mais fáceis de serem sentidos são primeiro os de substâncias altamente voláteis e segundo os de substâncias extremamente solúveis em gordura. Os voláteis podem ser entendidos pela necessidade de as partículas atingirem as regiões mais superiores das cavidades nasais, impulsionadas pelo turbilhonamento causado durante a inspiração. Já a solubilidade em gordura se explica porque os próprios cílios olfativos são expansões da membrana celular da célula olfatória, que é constituída por substâncias gordurosas. Provavelmente as substâncias odoríferas se dissolvem na membrana dos cílios, modificando o potencial elétrico da membrana, o que produziria os impulsos neurais nas células olfativas.

Relataram ainda que as vias olfativas terminam em duas áreas principais do cérebro: áreas olfativas mediais e laterais. A área olfativa medial fica situada na parte verdadeiramente central do cérebro, em frente e pouco acima do hipotálamo, enquanto a área olfativa lateral localizada-se na face inferior do cérebro, atingindo, lateralmente, a base do lobo temporal anterior. A área olfativa medial é responsável pelas funções primitivas do sistema olfativo: salivação e lambar os lábios, e faz com que o animal escolha uma refeição saborosa. Já a área lateral inclui partes da amígdala do lobo temporal, que se liga com o córtex temporal, com o hipocampo e com o córtex pré-frontal, regiões muito importantes para a função cortical, e está relacionada com as respostas mais complexas aos estímulos olfativos, como a diferenciação e o reconhecimento de certos tipos de odores e a identificação de um alimento como agradável ou não, com base em experiência prévia.

### *1.1.3. Metaplasia epitelial*

Brasileiro Filho (1994) e Cotran (1996) definiram metaplasia epitelial como substituição de um tecido por outro da mesma linhagem, com comportamento reversível.

Gusic (1964), Topozada (1982), Wolf (1995) e Dye (1996) relataram que as aéreas de metaplasia na mucosa nasal são resultados de agressões químicas, físicas ou infecciosas, e que essas metaplasias alteram de intensidade conforme o fator, o tempo e o grau de exposição.

Malaty et al. (1970) e Boysen et al. (1982) constataram que apesar de apresentar maior resistência o epitélio que sofreu processo de metaplasia tem sua função ciliar prejudicada, assim como a produção de muco, levando ao aumento no número de processos infecciosos.

#### *1.1.4. Tabagismo e epitélio da mucosa nasal*

Existem poucos estudos sobre o malefício que o cigarro causa na olfação. Em 1966, o serviço de saúde pública americano sugeriu que o tabaco era prejudicial à olfação, porém somente no final dos anos de 1980 essa relação foi estabelecida por Frye et al., que mostraram que a perda da capacidade de diferenciar odores está relacionada à dose e ao tempo de exposição em fumantes atuais e nos ex-fumantes.

Através de microscopia eletrônica, Matulionis (1974) analisou o epitélio olfatório de camundongos expostos ao fumo uma ou duas vezes ao dia, durante seis e nove dias, em três grupos de linhagens. Um grupo não foi afetado. O segundo grupo teve alterações epiteliais relevantes, com redução do número e tamanho das vesículas olfatórias e do número de cílios olfatórios (responsáveis pela olfação), dificultando a passagem para a superfície do epitélio. Sua região basal estava pérvia, enquanto a região apical estava bloqueada. Nos camundongos que foram comprometidos pelo tabagismo, o grau de alterações ocorridas reflete que a função olfatória foi afetada. Como o epitélio olfatório não apresentou o mesmo grau de alterações em todos os animais da mesma linhagem, indicou também a existência de fatores genéticos.

Lundberg et al. (1984) mostraram, em pesquisa com ratas, que o edema causado na mucosa nasal não ocorre pela nicotina, e sim pelos irritantes que compõem o vapor inalado que estimulam fibras aferentes tipo C.

Marcos et al. (1986) relataram alterações encontradas no epitélio respiratório nasotraqueo-bronquial de ratas da raça Wistar expostas ao tabagismo, em diferentes doses e tempo de exposição e período de privação ao cigarro antes da eutanásia dos animais, e estudaram esses tecidos através de microscopia óptica e eletrônica; as alterações que chamaram a atenção nos animais expostos a quatro cigarros/dia, durante 15 dias, foram: a perda ciliar e os discretos infiltrados linfocitários na lâmina própria nasal, traqueal e pulmonar. Em microscopia eletrônica também foram constatadas alterações importantes na estrutura ciliar, apresentando assimetria e alongamento dos cílios.

Os mesmos autores referem que com o aumento da concentração (13 cigarros/dia, por 90 dias), além da perda dos cílios, ocorreram o aumento da quantidade das células caliciformes e a presença de um fraco infiltrado linfocitário na lâmina própria. Nos expostos a 20 cigarros/dia, durante 180 dias, houve maior infiltrado linfocitário, com abundante produção de muco, e foi notável a perda total dos cílios.

Ainda no subgrupo que não foi exposto 15 dias antes do sacrifício (20 cigarros/dia, por 180 dias), foram observados estratificação do epitélio, maior produção de muco, maior infiltrado linfocitário, predomínio de células caliciformes e reparação de alguns cílios. O subgrupo com 20 cigarros/dia, durante 180 dias e sem exposição ao cigarro 30 dias antes da eutanásia, apresentou cílios abundantes, porém persistiram o infiltrado inflamatório crônico e o aumento de células caliciformes, sem alteração, apesar de mais tempo de restrição à fumaça do cigarro. Como aspectos ultraestruturais foram observadas ainda anomalias quantitativas e qualitativas das estruturas ciliares. Foi constatada evidente atrofia e a morfologia do epitélio também mostrou alterações, como pleomorfismo celular moderado e algumas células necróticas com citoplasma eletrodense e diminuição notável das organelas (mitocôndrias edematosas). Ocorreu ainda aumento do tecido colágeno subepitelial.

Marcos et al. (1986) observaram, nas ratas em que a exposição ao fumo foi suspensa antes da eutanásia, dados de normalização tanto epitelial como ciliar. Os resultados fazem pensar que as alterações no epitélio nasal pela exposição ao tabagismo determinam alterações severas de todo o trato respiratório, perdendo-se principalmente as propriedades de defesa nasal e, conseqüentemente, as que permitem adequar o ar inspirado que posteriormente entrará em contato com o resto do epitélio respiratório traqueo-bronquial.

Ahlstrom et al. (1987) foram uns dos poucos pesquisadores que também incluíram o tabagismo passivo, quanto à discriminação olfativa, em seus estudos. Eles compararam nos três grupos, fumantes, não fumantes e fumantes passivos, a percepção do odor de duas substâncias do cigarro, n-butano e piridina, pois é provável que exista diminuição seletiva na percepção dos odores originados do próprio cigarro, fazendo com que só se perceba as substâncias de odores mais fortes. Em relação à piridina, constatou-se que houve diminuição da percepção no grupo dos fumantes. No grupo dos tabagistas passivos os pesquisadores observaram, semelhantemente ao grupo dos fumantes, que os estímulos com n-butano foram considerados mais fracos que nos não fumantes. Como explicação, em relação aos fumantes, essa diminuição seria causada por uma familiaridade com esse tipo de odor, levando-os a habituar-se/adaptar-se, e não como perda olfativa. O fenômeno da adaptação se deve a fatores centrais, enquanto as perdas se relacionam mais com alteração neuroniais periféricas.

Em outro estudo de Frye et al. (1990), com um grande número de participantes, divididos em três grupos: não fumantes, ex-fumantes e fumantes atuais, foram comparados os efeitos do tabagismo, conforme a dose em uso. Esses indivíduos foram submetidos ao teste de identificação de 40 odores da Universidade da Pensilvânia. Concluíram que o fumo está associado à perda da capacidade de diferenciar odores no grupo dos fumantes atuais e nos dos ex-fumantes, sugerindo mudança na olfação em longo prazo. Poderia ocorrer recuperação da olfação com a interrupção do hábito de fumar, porém esta melhora seria demorada, para cada ano consumindo dois maços por dia seria necessário um ano sem o uso.

Sacre-Hazouri et al. (2000) analisaram 58 pacientes com disfunção olfatória, sendo 29 mulheres e 29 homens, com média de idade de 52,6 anos, por meio de provas olfatórias com base na norma de Caim, Gent, Catalanotto e Goodspeed, usando o reconhecimento de concentrações mínimas de n-butil álcool, rinomanometria, citograma nasal, endoscopia nasal, radiografia de seios da face, tomografia computadorizada de fossa anterior do crânio e seios paranasais. Os autores encontraram como causa de perda olfatória a disfunção inflamatória (alérgicas, infecciosas ou mistas) em 48,3% (28 pacientes) dos casos, sendo 25% de origem alérgica, 21% infecciosa e 54% mistas. Com hiposmia severa e ao exame endoscópico das cavidades nasais não conseguiram observar o epitélio olfatório em 23 deles, pois apresentavam inflamação, edema ou obstrução. Foram observadas ainda disfunção pós-viral em 20,7%; disfunção pós-trauma em 12,1%; miscelânea (disfunção congênita, pós-etmoidectomia e pós-acidente vascular cerebral) em 8,6%; e disfunção por toxinas em 6,9% dos casos, tendo a amônia sido encontrada como responsável em dois casos: propano líquido em um caso e uma mistura de acetona e tabagismo em outro caso. Todos os pacientes apresentaram hiposmia severa, sem anormalidades nos estudos radiológicos, no citograma nasal normal e na coloração esbranquiçada do epitélio olfatório na endoscopia nasal; como última causa os autores relataram a disfunção indeterminada em 3,4%, com possível alteração psiquiátrica. Eles deduziram que a inflamação crônica persistente está relacionada com a liberação de histaminas, leucotrienos, prostaglandinas, estearases e fator de ativação plaquetário, levando a um edema importante da mucosa nasal, com consequente obstrução das fibras olfatórias. Pode também alterar fisicamente as fibras nervosas, evitando o contato dos receptores olfatórios com a mucosa, ocasionando a disfunção. Em uma fase tardia da resposta nasal ao estímulo alérgico ocorre ativação imunológica mediada por IgE, atraindo eosinófilos, liberando leucotrienos, muco e fator de ativação plaquetário, o que causa aumento da permeabilidade vascular, com piora do edema da mucosa.

Segundo Moszczyński et al. (2001), as alterações histológicas produzidas pelo tabagismo são mais estudadas nos pulmões. Ocorre hipertrofia das células caliciformes e hipertrofia das glândulas da lâmina própria com o aumento da produção de muco, como acontece na rinite alérgica. As alterações histológicas na mucosa nasal ainda não são bem definidas, porém sabe-se que ocorrem alterações no DNA celular nos tabagistas (Moszczyński et al., 2001).

Nesse mesmo estudo analisaram a função ciliar em tabagistas e mostraram o aumento no tempo de drenagem (*clearance*) nos fumantes (20,8 minutos contra 11,0 nos não fumantes), concluindo-se que ocorre alteração no número de cílios ou na viscosidade do muco, já que a frequência dos batimentos ciliares continua inalterada. Foi comprovado também que os efeitos do tabagismo em longo prazo, sobre o sistema mucociliar, só são significantes em fumantes de mais de 20 cigarros por dia.

Quanto à imunidade, relataram que o cigarro é responsável pela diminuição das imunoglobulinas no soro e dos linfócitos *T Helper*, *T Supressor* e *T natural Killer* e que a imunossupressão não é encontrada em todos os fumantes e que os tabagistas em pequena quantidade apresentam níveis de imunidade iguais aos dos não-fumantes. Outros trabalhos discordam desses resultados, levando-se a crer que existam relações mais complexas entre o tabagismo e o sistema imunológico.

Nageris et al. (2002) submeteram 20 crianças de 10 a 15 anos, dez expostas ao tabagismo passivo e dez de grupo-controle, a teste de odores que eram constituídos de: vinagre, rosas, pastilhas para tosse, amônia, pimenta e baunilha, as quais deveriam identificar essas substâncias. O grupo-controle identificou corretamente 79% e o grupo de estudo acertou em 71% das vezes; a confusão entre os odores ocorreu em 72% do grupo exposto ao tabagismo e 52% no grupo-controle. Estas afirmativas são estatisticamente significantes e comprovam que filhos de pais fumantes tendem a confundir cheiros, principalmente de rosas, baunilha e pastilhas para tosse. Os resultados sugerem que esses odores são suficientes para testar o olfato nas crianças.

Maeda et al. (2004), comparando dois grupos, sendo um de tabagistas e outro de pessoas que usaram goma de nicotina com dose igual à desta substância para os dois grupos, por meio de rinomanometria e da técnica de bioensaio *in vitro*, concluíram que o tabagismo diminui a patência nasal e relataram esta piora, em conjunto com uma contração/retração da mucosa nasal nos primeiros 5 minutos e depois deste tempo, um aumento da espessura desta mucosa, o que levaria à congestão nasal. A contração da mucosa, pela técnica de bioensaio mostra que esse é um efeito local.

Segundo Henriques et al. (2007), a perda do olfato ainda está relegada a um segundo plano entre as alterações sensitivas, apesar de diminuir a qualidade de vida em qualquer indivíduo, levando-o ao estresse e à depressão. Para Schiffman (1983) e Augusto et al. (2008), a disfunção não é rara, e segundo estudos americanos de Spielman (1998), 2 milhões de habitantes sofrem de alteração olfatória e do paladar.

Augusto et al. (2008) classificaram as deficiências olfativas em: condutivas, sensório-neurais e centrais, sendo a primeira correspondente a uma obstrução que impede que a substância odorífera atinja as regiões olfatórias do nariz; e as sensório-neurais, que apresentam lesão ou no epitélio especializado ou nos nervos olfatórios. Já as disfunções do tipo central representam lesões que podem se encontrar no bulbo olfatório, no trato e nas estrias olfatórias ou em alguma região dos centros olfatórios corticais. Os pesquisadores ainda classificaram como mistas as disfunções em que havia mais de um tipo de localização das lesões. Em seus estudos encontraram 55% de disfunção de causa condutiva, 40% foram classificadas como sensório-neurais ou centrais e 5% como idiopáticas, tendo a alteração ocorrido de forma súbita em 39,1% dos casos, 47,8% apresentado piora gradual e 60,9% queixa contínua, sem situações de melhora. Revelaram também que as doenças nasossinusais foram as principais causas de alteração olfatória (55%), depois vieram as infecções de vias aéreas superiores (20%) e o traumatismo crânio-encefálico, representando 10% dos distúrbios do olfato. Apter et al. (1992), mostraram que a causa inflamatória tinha frequência de 28,6%, concordando com o estudo da Universidade Estatal de Nova York (SUNY), de 29%.

## **2. OBJETIVOS**

Estudar as possíveis alterações histológicas provocadas pelo tabagismo passivo nas células do epitélio olfatório de camundongos com relação ao tempo e à quantidade de exposição diária.

### 3. MATERIAL E MÉTODO

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo CEP UNISA (Universidade de Santo Amaro), registrado sob o nº 007/07, parecer nº 121/2007.

Após levantamento bibliográfico e análise e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, foi realizado um projeto com 21 camundongos; destes, 18 foram expostos à fumaça de cigarro comum, simulando uma situação de tabagismo passivo. Os três camundongos restantes não foram expostos, formando o grupo-controle.

O projeto foi realizado no Laboratório UNITOX-Royal, com aprovação, orientação e cuidados médico-veterinários da Dra. Alexandra Alves Nicolau (veterinária responsável) e supervisão da Professora Dr<sup>a</sup> Ingrid Tavares Bulhões (diretora de pesquisa).

Seguindo orientação da veterinária responsável, utilizamos camundongos da raça Swiss, do sexo masculino, com dez semanas de idade, ou seja, com dois meses e 15 dias, pois esses têm uma vida média de seis meses; eles foram adquiridos no UNITOX-Royal, onde cumpriram um período de quarentena e ficaram alojados.

Os animais foram divididos em sete grupos:

- 1) controle;
- 2) camundongos expostos a 10 cigarros/dia, por um mês;
- 3) camundongos expostos a 20 cigarros/dia, por um mês;
- 4) camundongos expostos a 10 cigarros/dia, por dois meses;
- 5) camundongos expostos a 20 cigarros/dia, por dois meses;
- 6) camundongos expostos a 10 cigarros/dia, por três meses; e
- 7) camundongos expostos a 20 cigarros/dia, por três meses.

Cada grupo continha três camundongos, que foram separados aleatoriamente, sendo um camundongo de cada grupo considerado como reserva, caso ocorresse morte de um dos animais, em tempo ou condições contrárias ao projeto.

O grupo 1 – controle, não foi exposto à fumaça do cigarro, para podermos comparar o epitélio olfatório desses animais com o dos outros grupos.

Os grupos numerados de 2 a 7 foram expostos diariamente ao cigarro comum, em recipiente de acrílico que media 35 x 25 x 20 cm; estas medidas têm relação aproximada com as de uma casa com cerca de 30 m<sup>2</sup> (Figs. de 1 a 8). Possuía ainda duas janelas de 2 cm<sup>2</sup> cada, para a função de respiro. Este modelo foi inspirado no trabalho de Marcos et al. (1986).



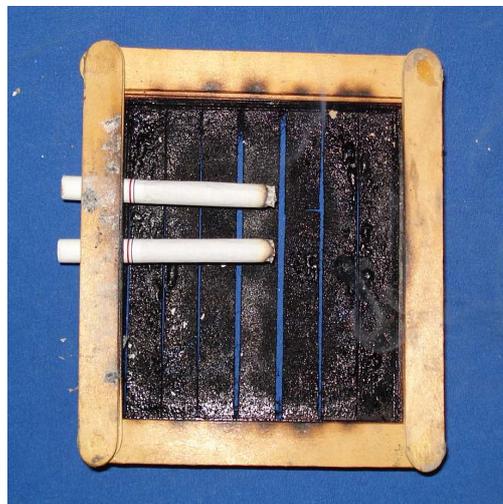
FIGURA 1 – Caixa de acrílico. Vista superior sem a tampa.



FIGURA 2 – Caixa de acrílico. Vista lateral sem a tampa.



FIGURA 3 – Recipiente de colocação dos cigarros, vista em meio perfil.



FIGURAS 4 – Recipiente de colocação dos cigarros dentro da caixa de acrílico. Vista com o lado inferior voltado para cima.



FIGURA 5 – Recipiente de exposição ao cigarro composto pela caixa de acrílico e pelo recipiente de madeira para colocação dos cigarros. Vista superior sem a tampa.



FIGURAS 6 – Recipiente de exposição ao cigarro composto pela caixa de acrílico e pelo recipiente de madeira para colocação dos cigarros, com dupla de camundongos, após 60 dias de exposição. Vista superior sem a tampa.



FIGURA 7 – Recipiente de exposição ao cigarro com dupla de camundongos, após 60 dias de exposição. Vista superior com tampa.



FIGURA 8 – Recipiente de exposição ao cigarro com dupla de camundongos, após 60 dias de exposição. Vista lateral.

Os cigarros foram colocados aos pares, ininterruptamente, até o total de dez nos grupos 2,3 e 4 ou 20 nos grupos 5,6 e 7, sendo esta exposição em recipientes separados.

O cigarro comum, com filtro, demora em média 10 minutos para queimar sem ser tragado. Os cigarros foram colocados em sequência, até o total de 10 ou 20 conforme o grupo estudado, completando 1,66 hora por dia de exposição nos grupos com 10 cigarros/dia e 3,33 horas por dia nos grupos com 20 cigarros/dia.

Foram colocados aos pares e em sequência em virtude do pouco tempo disponibilizado pelo laboratório para a exposição diária dos animais, devido à interferência que a fumaça do cigarro poderia causar em animais de outros projetos de pesquisa que estavam sendo realizados no laboratório UNITOX-Royal, que tinham que ser retirados do local, para que pudessemos realizar a queima dos cigarros.

Após o término do período de exposição ao tabagismo passivo programado para cada grupo, dois camundongos de cada grupo, escolhidos aleatoriamente, foram sacrificados com injeção de Thionembatal.

Posteriormente foram dissecados, retirando-se as cabeças dos animais (Fig. 9), que foram colocadas em formol tamponado a 10% por cinco dias.

Em seguida, foram fixados em parafina e depois cortados no sentido coronal em micrótomo (FIGS. 10 e 11), seguindo o experimento realizado por Vent et al. (2004).

Após serem corados com hematoxilina-eosina, o tecido da região do epitélio olfativo, que pode ser visto em destaque nas Figuras 10 e 11, foi analisado em microscópio óptico em 200x e 400x.

O preparo e a análise das lâminas foram realizados pelo Professor Dr. Moacyr Pizati Rigueiro, que comparou o epitélio olfatório dos camundongos dos grupos 2, 3, 4, 5, 6 e 7 com os dos animais do grupo 1 – controle. A comparação histológica levou em consideração a quantidade, o tamanho e a ausência de lesões nos cílios; a presença de células inflamatórias em número anormal; e a morfologia, a quantidade e a presença de metaplasia das células que compõe o epitélio olfatório e no tecido conjuntivo frouxo subjacente.



FIGURA 9 – Preparação do focinho do camundongo para formalização e posterior corte em sentido coronal.

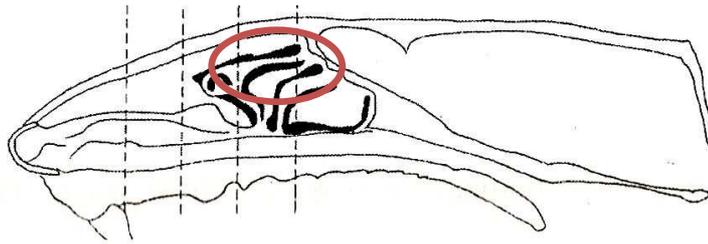


Figura 10 – Desenho esquemático da cabeça de um camundongo, cortada em sentido sagital, com destaque para a região do epitélio olfatório circundada em vermelho, e a direção de corte (coronal) em pontilhado (modificado de Vent et al., 2004).

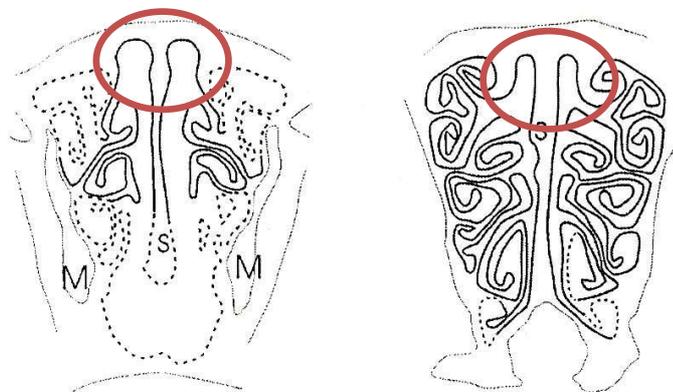


Figura 11 – Desenho esquemático das cavidades nasais de um camundongo, cortado em sentido coronal, com destaque para a região do epitélio olfatório circundada em vermelho (modificado de Vent et al., 2004). Vemos ainda: “S” = septo nasal; e as letras “M” = seios maxilares.

## 4. RESULTADOS

As lâminas analisadas e comparadas entre o grupo-controle e os grupos de estudo não apresentaram diferenças na região do epitélio olfatório dos camundongos expostos a dez ou 20 cigarros por dia, por um, dois ou três meses, em relação ao grupo-controle.

A microscopia ótica em 200x e 400x mostrou haver semelhança no número e tamanho dos cílios, a presença de linfócitos em número normal nos animais não expostos e nos expostos a dez e 20 cigarros por um, dois ou três meses.

As células sustentaculares, basais e olfatórias não mostraram nenhuma diferença morfológica ou quantitativa entre os grupos estudados.

O tecido conjuntivo frouxo mostrou-se normal em todos os grupos.

Não foram observadas áreas de metaplasia ou outras lesões em nenhuma região do epitélio olfatório nos grupos controle e de estudo.

A seguir serão mostradas as imagens das lâminas, coradas com hematoxilina-eosina aumentadas 400x, para melhor análise e comparação.

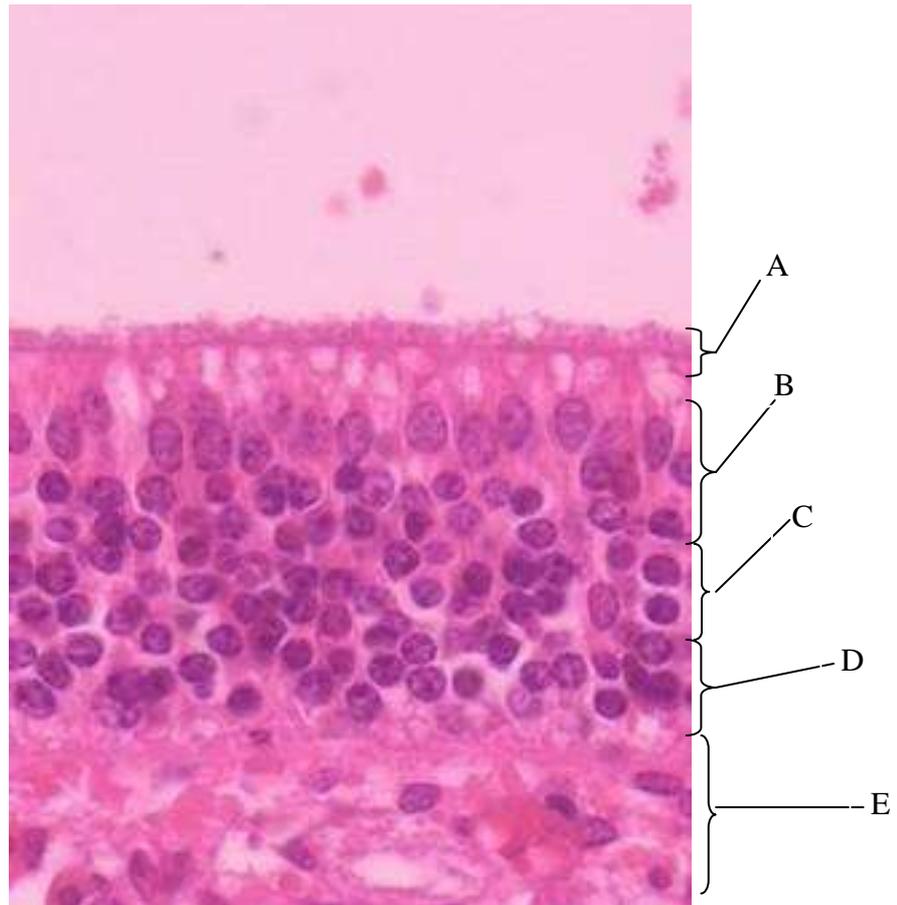


Figura 12 – Epitélio olfatório do grupo-controle, corado com hematoxilina-eosina em 400x, onde identificamos: A) região dos cílios olfatórios – barra terminal; B) região das células sustentaculares e dos botões olfatórios; C) região das células olfatórias; D) região das células basais; e E) tecido conjuntivo frouxo, onde se localizam as fibras nervosas e glândulas de Bowman.

#### 4.1. Camundongos expostos a dez cigarros por dia

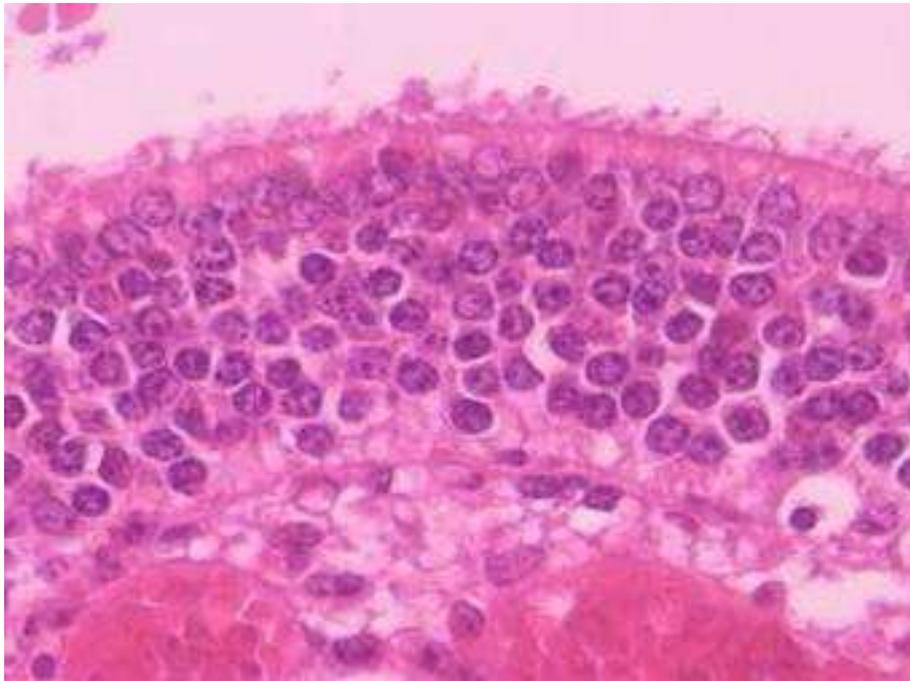


Figura 13 – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia durante um mês (H.E. 400x)

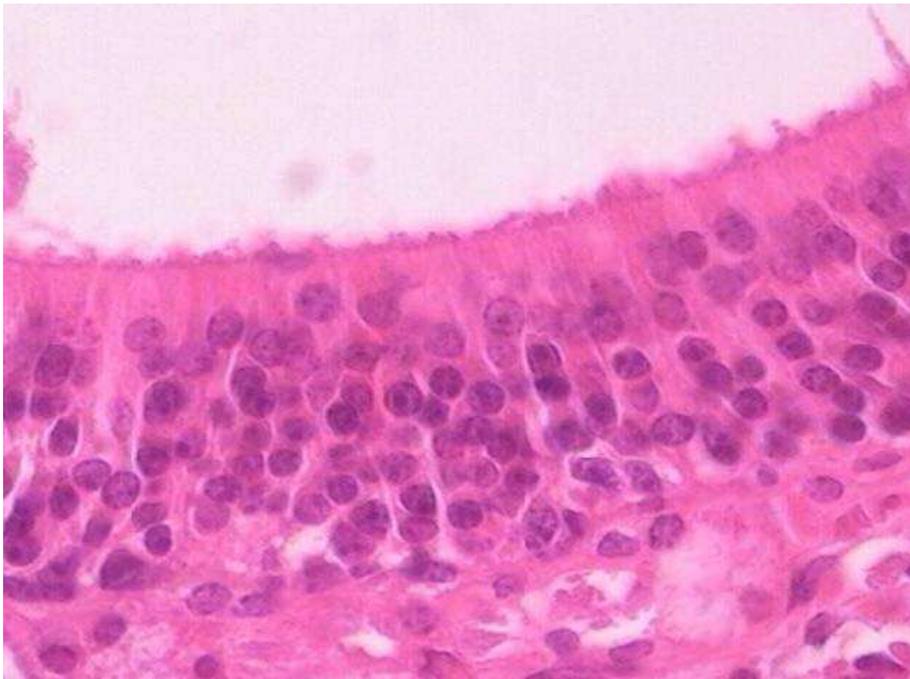


Figura 14 – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia durante dois meses (H.E. 400x).

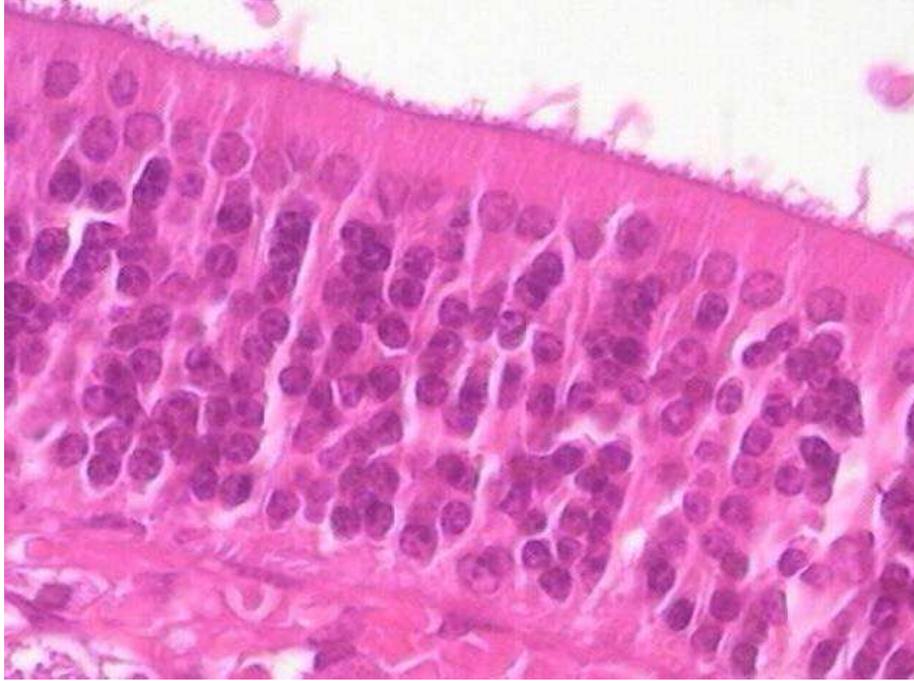


Figura 15 – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia durante três meses (H.E. 400x)

#### 4.2. Camundongos expostos a 20 cigarros por dia

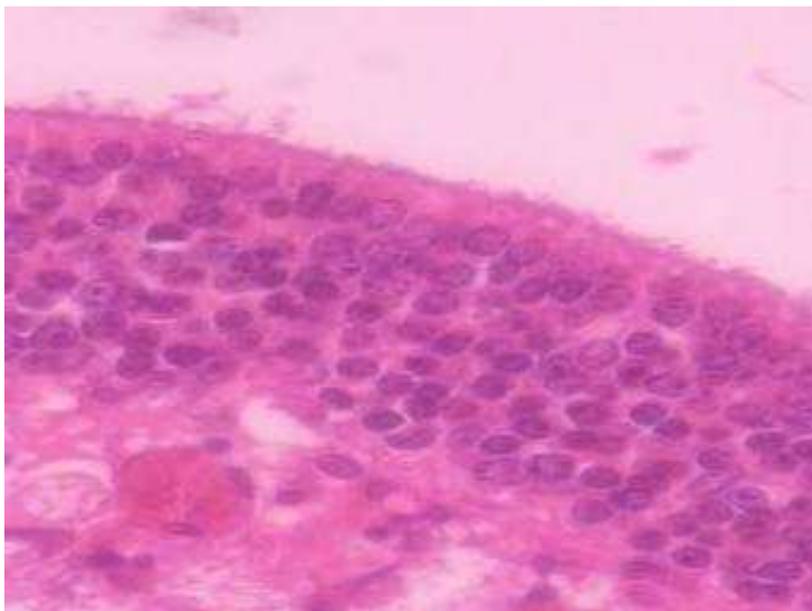


Figura 16 – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia durante um mês (H.E. 400x)

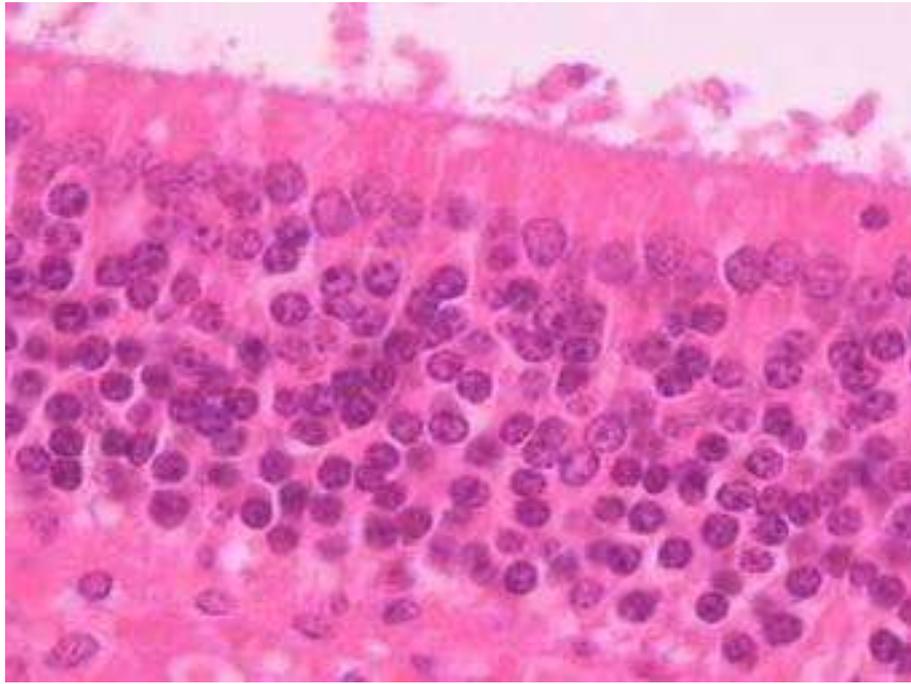


Figura 17 – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia durante dois meses (H.E. 400x)

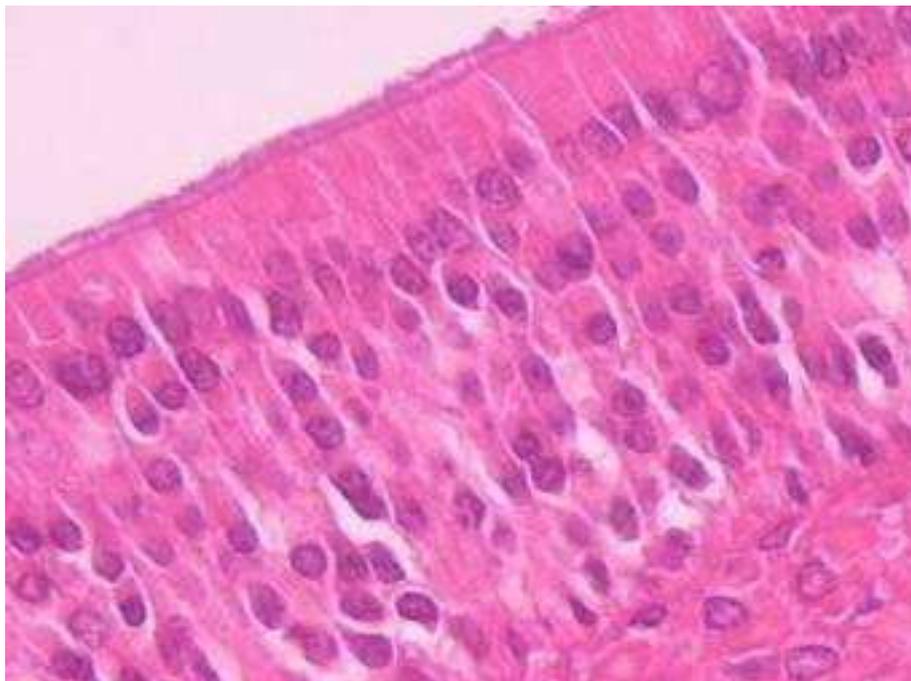


Figura 18 – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia durante três meses (H.E. 400x)

## 5. DISCUSSÃO

Uma das primeiras instituições de saúde a constatar que o tabagismo poderia ser prejudicial à olfação foi o Serviço de Saúde Pública Americano, em 1966. Esta relação foi descrita em 1989 por Frye et al., que mostraram que a perda da capacidade de diferenciar odores está relacionada à dose e ao tempo de exposição em fumantes atuais e nos ex-fumantes. Atualmente, sabe-se que o cigarro é um dos causadores da diminuição do sentido do olfato, e em nosso trabalho tentamos relacionar esta perda sensitiva com possíveis alterações histológicas no epitélio olfatório de camundongos expostos ao tabagismo passivo.

No presente estudo não foram constatadas diferenças na histologia da mucosa olfatória de camundongos submetidos ao fumo passivo, com doses e tempo de exposições diferentes. Este resultado pode ser devido ao curto espaço de tempo de exposição, porém difere dos resultados obtidos por Marcos et al. (1986), que encontraram maior número de linfócitos e reação inflamatória local, apesar da menor quantidade de cigarros em alguns grupos. Esses autores comparam o epitélio olfatório de ratas da raça Wistar, divididas em grupos expostos ao tabagismo passivo, em diferentes doses e tempo de exposição e período de privação ao cigarro antes da eutanásia dos animais. Seguimos esse trabalho para a produção da caixa de acrílico, inclusive suas medidas, e analisamos a quantidade, o tamanho e a ausência de lesões nos cílios; a presença de células inflamatórias em número anormal; a morfologia, a quantidade e a presença de metaplasia das células que compõe o epitélio olfatório e no tecido conjuntivo frouxo subjacente. Marcos et al. (1986) analisaram, em relação ao estado do epitélio, a proporção de células caliciformes contra a de células ciliadas, a presença de inflamação ou destruição do epitélio, a presença de metaplasia e displasia e a presença de atipias; quanto às regiões mais profundas do epitélio, a proporção de glândulas serosas, as

mucinosas e a quantidade de muco produzido. Descreveram infiltrados linfocitários na lâmina própria da mucosa e alterações importantes na estrutura ciliar, apresentando assimetria e alongamento dos cílios, com piora progressiva com o aumento da dose e do tempo de exposição com maior número de glândulas serosas, produção de muco e ausência total dos cílios olfativos nas ratas expostas por 20 cigarros/dia, durante 180 dias. No subgrupo exposto pelo mesmo período citado e sem exposição à fumaça por 15 dias antes da eutanásia, ainda se mantinha o aspecto inflamatório da mucosa nasal, porém com recuperação parcial dos cílios; já no subgrupo sem exposição ao cigarro 30 dias antes da eutanásia, os cílios eram abundantes, porém persistiam o infiltrado inflamatório crônico e o aumento de células caliciformes.

Nesta pesquisa foram constatados linfócitos na lâmina própria, porém em quantidades normais, sendo necessário ressaltar que nos estudos de Marcos et al. (1986) os autores utilizaram ratas e nesta pesquisa foram utilizados camundongos e ainda analisou a mucosa nasal através de microscopia óptica e eletrônica, encontrando mais alterações nesta última, onde se conseguem observar as microestruturas celulares. Em nossa análise, não encontramos infiltrado inflamatório, aumento no número de glândulas serosas ou na quantidade de muco ou diminuição do número de cílios olfatórios, lembrando que neste trabalho tivemos um grupo que foi exposto a 20 cigarros por dia, por 90 dias, quase se assemelhando a um dos subgrupos do estudo de Marcos et al. (1986), com exposição de 20 cigarros por dia, por 180 dias, e mesmo assim não encontramos alterações histológicas nos animais. Ocorreu ausência de metaplasia em ambos os estudos.

Com a utilização dessa mesma técnica, Matulionis (1974) analisou o epitélio olfatório de camundongos que foram expostos ao tabagismo em menor dose e tempo que os aqui pesquisados, com três tipos de raças diferentes: um teve como resultado um grupo que não apresentou alterações, no outro foram constatadas diferenças relevantes quanto ao epitélio olfatório normal, principalmente quanto ao número de cílios olfatórios, e observou-se que a região superior da mucosa das cavidades nasais permaneceu pérvia. No último grupo de camundongos ocorreram lesões mais intensas no tecido, que condizem com o acometimento da função olfatória. O autor relatou que houve grandes diferenças nos achados microscópicos entre as mesmas espécies (raças) de camundongos, o que indica a interferência de fatores genéticos. Em comparação com o nosso estudo, em que só foram utilizados camundongos da mesma raça, acredita-se que não foram constatadas alterações devido ao pequeno número de animais por grupo (três em cada) e por não ter sido possível realizar microscopia eletrônica nas amostras.

Não encontramos regiões de metaplasia no epitélio respiratório ou olfativo de nossas amostras. A metaplasia que foi definida por Brasileiro Filho (1994) e Cotran (1996) como a substituição de um tecido por outro da mesma linhagem, com comportamento reversível, que poderia levar à diminuição da olfação por alteração celular, que poderia ser causada pela inalação da fumaça do cigarro. Esses resultados foram relatados por Gusic (1964), Topozada (1982), Wolf (1995) e Dye (1996), que concluíram que a metaplasia na mucosa nasal é resultado de agressões químicas, físicas ou infecciosas, sendo a fumaça do cigarro um fator importante de agressão química, e que essas metaplasias alteram de intensidade conforme o fator, o tempo e o grau de intensidade à exposição. Segundo Malaty et al. (1970) e Boysen et al. (1982), o epitélio onde ocorreu metaplasia tem sua função ciliar prejudicada, assim como a produção de muco, o que poderia causar a diminuição da olfação por maior dificuldade no transporte das partículas odoríferas de alcançarem as regiões superiores das fossas nasais, onde se encontra o epitélio olfatório e também causando aumento do número de processos infecciosos respiratórios, o que nas cavidades nasais poderia levar ao bloqueio da região olfatória, pelo edema local. No nosso caso, encontramos números normais de linfócitos, ausência de edema local, o que pode ter sido causado pelo tipo de exposição realizado, com os cigarros sendo colocados em sequência e aos pares, o que pode ter deixado os camundongos sem a exposição ao tabagismo, por longo período durante o dia, pelo limitado tempo que nos foi disponibilizado pelo laboratório onde foi realizado o experimento, devendo ser lembrado que a metaplasia tem um comportamento reversível, quando cessada a exposição.

Após a revisão da literatura, acreditávamos que encontraríamos alterações inflamatórias em algumas das regiões da mucosa nasal. Segundo os estudos realizados em seres humanos, como de Vinke et al. (1999), utilizando crianças que conviviam com fumantes, a biópsia na concha nasal inferior mostrou aumento das células inflamatórias e de imunoglobulina E, em comparação com o grupo não exposto ao cigarro, e concluíram que a fumaça do cigarro é um dos principais desencadeantes de sintomas alérgicos de vias respiratórias superiores e inferiores e que na mucosa nasal desencadeia principalmente rinorréia e congestão, provocados ou por alérgenos do tabaco ou pela alteração provocada no sistema mucociliar. Estes resultados têm apoio nos trabalhos de Lundberg et al. (1984), que em pesquisa com ratas mostraram que o edema causado na mucosa nasal não ocorre pela nicotina, e sim pelos irritantes que compõem o vapor inalado.

Neste estudo não encontramos áreas de edema mucoso e estudamos o epitélio olfatório, onde o sistema ciliar, em comparação com os cílios do epitélio respiratório, é imóvel, mais especializado, por ser o prolongamento do corpo celular das células olfatórias,

localiza-se nas regiões mais superiores das cavidades nasais, em uma área restrita e de menor extensão do que o epitélio respiratório, e não apresenta função de drenagem de muco e sim de olfação. Guardamos diferenças ainda com o estudo de Vinke et al. (1999), por estes terem utilizado crianças que ficavam expostas diariamente ao tabagismo passivo intradomiciliar, por pelo menos 4,8 horas diárias, e do trabalho de Lundberg et al. (1984), que utilizaram ratas expostas por menor número de dias e maior tempo diário de exposição (aproximadamente 5 horas), enquanto nossos camundongos ficaram 1,66 hora por dia de exposição nos grupos com dez cigarros/dia e 3,33 horas por dia nos grupos com 20 cigarros/dia. Acreditamos que o fato de não terem sido encontradas alterações histológicas em nossas amostras foi devido a essas diferenças de metodologia.

Confirmando o relato de Lundberg (1984), de que a irritação da mucosa nasal acontece principalmente pela fumaça inalada, Maeda et al. (2004), comparando dois grupos, sendo um de tabagistas e outro de pessoas que usaram goma de nicotina, encontraram na rinomanometria diminuição do fluxo nasal, após 5 minutos de exposição, e no bioensaio *in vitro* encontrou uma contração/retração da mucosa nasal nos primeiros 5 minutos, e depois deste tempo constataram aumento da espessura desta mucosa, o que levaria à congestão nasal. A retração da mucosa, encontrada pela técnica de bioensaio, mostra que esse é um efeito local e só encontrado nos indivíduos fumantes, e não no grupo que utilizou a goma de nicotina. O edema mucoso local poderia também levar à diminuição da olfação, por bloqueio da região olfatória. Em nosso estudo foram utilizados camundongos expostos indiretamente e analisamos a histologia através de microscopia óptica, pois o nosso objetivo era procurar alterações causadas pelo tabagismo passivo, e não a quantidade do fluxo nasal, que é mais bem avaliada pela rinomanometria.

Em seres humanos, a idade interfere na olfação, pois leva à atrofia e ao ressecamento da mucosa nasal como um todo, segundo os trabalhos de Malaty et al. (1970), e pela vulnerabilidade das células olfatórias às variações hormonais e doenças que influenciem a velocidade de mitoses para regeneração deste epitélio e por diminuição no número de glomérulos olfativos, segundo Schiffman (1991); no nosso trabalho não foi encontrada nenhuma alteração epitelial nos camundongos com idade mais avançada, o que pode ter ocorrido pelo fato de esse epitélio ser mais desenvolvido em animais, pois a sua sobrevivência depende muito da olfação, diferindo dos seres humanos. Poderia ter sido encontrada alguma diferença na sensação olfatória, mas para esta análise seria necessário realizar testes de reconhecimento olfativo, aspecto este que não foi avaliado no trabalho, e os resultados histológicos nos camundongos não condizem com os encontrados em seres humanos em idade

mais avançada. Deve ser lembrado ainda que foram utilizados camundongos do sexo masculino, de uma única raça (Swiss), com dois meses e 15 dias de idade, pois esses têm uma vida média de seis meses. A escolha da raça foi orientada pela veterinária responsável, que argumentou que essa espécie tem boa tolerância ao estresse, que o seu tamanho seria mais correspondente aos dos seres humanos em idade adulta em relação ao recipiente de exposição, que é de mais fácil manejo e que a idade dos camundongos correspondia à de adultos em seres humanos. Os camundongos expostos por três meses estavam, ao fim do experimento, com cinco meses e 15 dias, perto da idade-limite.

Ahlstrom et al. (1987) foram uns dos poucos pesquisadores que também incluíram o tabagismo passivo, quanto à discriminação olfativa, em seus estudos com humanos, e como resultado houve perda na capacidade de diferenciar odores, sendo mais importante no grupo dos fumantes em relação aos fumantes passivos, comparado com o grupo dos não fumantes. Relataram que essa diminuição seria causada por uma familiaridade com esse tipo de odor, levando-os a adaptar-se, o que se deve a fatores centrais, e não como perda olfativa que se relacionam mais com alterações neuronais periféricas. Frye et al. (1990), estudando grupos de não fumantes, ex-fumantes e fumantes atuais, comparados pelo teste de identificação de 40 odores da Universidade da Pensilvânia, concluíram que o fumo está associado à perda da capacidade de diferenciar odores no grupo dos fumantes atuais e nos ex-tabagistas, sugerindo mudança na olfação em longo prazo. Nageris et al. (2002) estudaram 20 crianças submetidas a teste de odores, dez expostas ao tabagismo passivo e dez de grupo-controle, e comprovaram que filhos de pais fumantes tendem a confundir cheiros, principalmente de rosas, baunilha e pastilhas para tosse. Diferentemente do nosso trabalho, estes autores estudaram seres humanos através de teste de identificação de odores, enquanto nós estudamos a histologia da mucosa olfativa. Os testes de reconhecimento de odores necessitam de respostas conscientes dos indivíduos submetidos ao teste, o que torna impossível seu uso em animais. Segundo os trabalhos citados, poderíamos ter encontrado alguma diferença no olfato dos camundongos expostos à fumaça do cigarro, se fosse possível a utilização deste tipo de teste.

Moszczyński et al. (2001) comprovaram que os efeitos a longo prazo do tabagismo sobre o sistema mucociliar só é significativo em fumantes de mais de 20 cigarros por dia. A alteração no muco pode levar à diminuição da olfação, pela dificuldade do transporte das partículas odoríferas até as regiões superiores das cavidades nasais, onde se encontra o epitélio olfatório, pois, como demonstrado, a função ciliar em tabagistas tem aumento no tempo de drenagem (20,8 minutos contra 11 em não fumantes), de onde se conclui que ocorre alteração no número de cílios ou na viscosidade do muco, já que a frequência continua

inalterada. Relataram ainda que a imunossupressão devido à diminuição das imunoglobulinas no soro e dos linfócitos *T Helper*, *T Supressor* e *T natural Killer* não é encontrada em todos os fumantes e que os tabagistas em pequena quantidade apresentam níveis de imunidade iguais aos dos não fumantes. Muitos outros trabalhos discordam desses resultados, levando-se a crer que existam relações mais complexas entre o tabagismo e o sistema imunológico.

Neste experimento, três grupos foram expostos a 20 cigarros por dia, por um, dois e três meses, e em nenhum deles foram encontradas alterações importantes nos cílios do epitélio olfatório dos camundongos, ou na produção de muco, visíveis na microscopia óptica.

Sacre-Hazouri et al. (2000) encontraram como causa de perda olfatória, em pacientes de ambos os sexos, a disfunção inflamatória (alérgicas, infecciosas ou mistas) em 48,3% dos casos, sendo 25% destes de origem alérgica e 54% mista, com hiposmia severa. No exame endoscópico das cavidades nasais, não conseguiram observar o epitélio olfatório em 23 deles, pois apresentavam inflamação, edema ou obstrução. Disfunção por toxinas ocorreu em 6,9% dos casos, tendo a amônia sido encontrada como causa em dois casos, sendo esta um dos principais componentes do cigarro, propano líquido em um caso e uma mistura de acetona e tabagismo em outro. Augusto et al. (2008) classificaram as deficiências olfativas em condutivas, sensorio-neurais e centrais. Em seus estudos encontraram 55% de disfunção de causa condutiva, 40% foram classificadas como sensorio-neurais ou centrais e 5% como idiopáticas. Revelaram também que as doenças nasossinusais foram as principais causas de alteração olfatória (55%), depois vieram as infecções de vias aéreas superiores (20%) e o traumatismo crânio-encefálico, representando 10% dos distúrbios do olfato. Apter et al. (1992), concordando com os resultados das pesquisas da Universidade Estatal de Nova York (SUNY), mostraram que a causa inflamatória tinha frequência próxima a 29%. No nosso trabalho não foi constatada inflamação epitelial no estudo histológico dos camundongos. Pela forma de exposição realizada, esperávamos encontrar alterações inflamatórias na mucosa nasal dos camundongos, pois a fumaça do cigarro é um importante poluente ambiental, principalmente intradomiciliar, que atua como desencadeante de alergias nas vias aéreas superiores e inferiores, e como demonstrado por Sacre-Hazouri et al. (2000) e Augusto et al. (2008), a inflamação da mucosa nasal é um dos fatores mais importantes que acarretam diminuição ou perda do olfato. Podemos não ter encontrado sinais de edema mucoso, pois tivemos que colocar os camundongos aos pares e em sequência, devido ao pouco tempo disponibilizado pelo laboratório para a exposição diária dos animais, pois a fumaça do cigarro poderia causar interferência em animais de outros projetos de pesquisa que estavam sendo realizados no laboratório UNITOX-Royal, que precisavam ser retirados do local, para que

podéssemos realizar a queima dos cigarros. O fato de nossos camundongos ficarem a maior parte do dia sem exposição pode explicar a não formação do edema da mucosa.

Novos estudos devem ser realizados para que este assunto seja realmente esclarecido. Pelo menos com relação à histologia, o fumo passivo, neste trabalho, não pode ser considerado causa determinante ou responsável por qualquer outra alteração.

Os animais, segundo Katz (1974), apresentam um epitélio olfatório com maior extensão e número de células nervosas em relação ao do homem, porque aqueles são mais dependentes desse sentido para sua sobrevivência. Ressalta-se ainda que a forma de exposição realizada neste trabalho e a que são expostos os humanos guardam diferenças quanto à maneira em que são submetidos à fumaça e a outros fatores externos de agressão ao epitélio nasal. Levando essas diferenças em consideração, não se pode relacionar este estudo com a situação em seres humanos, necessitando, deste modo, a confirmação destes resultados em trabalhos a serem realizados em seres humanos.

## **6. CONCLUSÃO**

O presente estudo permitiu concluir que não há diferenças histológicas do epitélio olfatório, corado por hematoxilina-eosina, de camundongos submetidos ao tabagismo passivo de dez e 20 cigarros por dia, por um, dois e três meses, em relação aos não expostos ao tabagismo passivo.

## **7. ANEXO**

## ANEXO A

### HISTOLOGIA

Grupo-controle corado com hematoxilina-eosina em 200x, mostrando epitélio olfatório em corte coronal, evidenciando o grande número de núcleos celulares (que condiz com epitélio sensorial especializado), alguns linfócitos e cílios olfatórios:

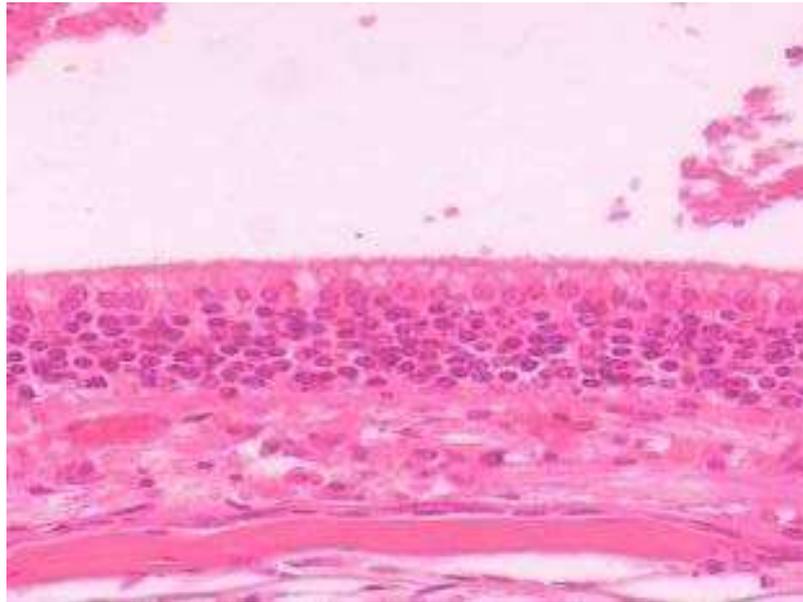


Figura 1A – Epitélio olfatório do grupo-controle (H.E. 200x).

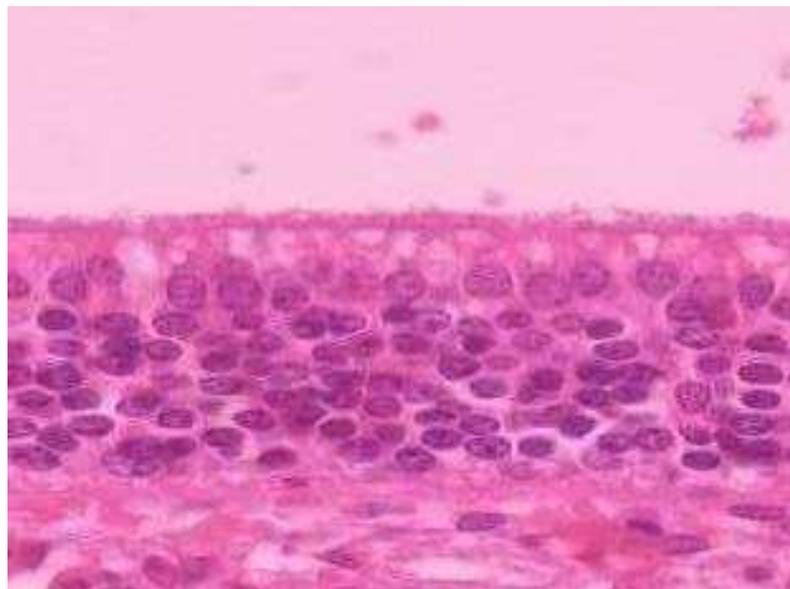


Figura 2A – Epitélio olfatório do grupo-controle (H.E. 400x).

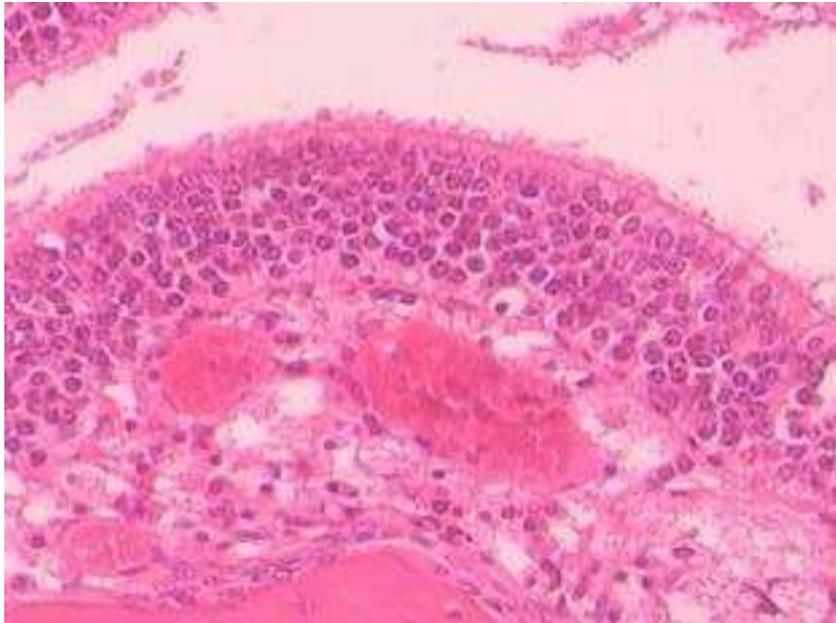


Figura 3A – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia, durante um mês (H.E. 200x).

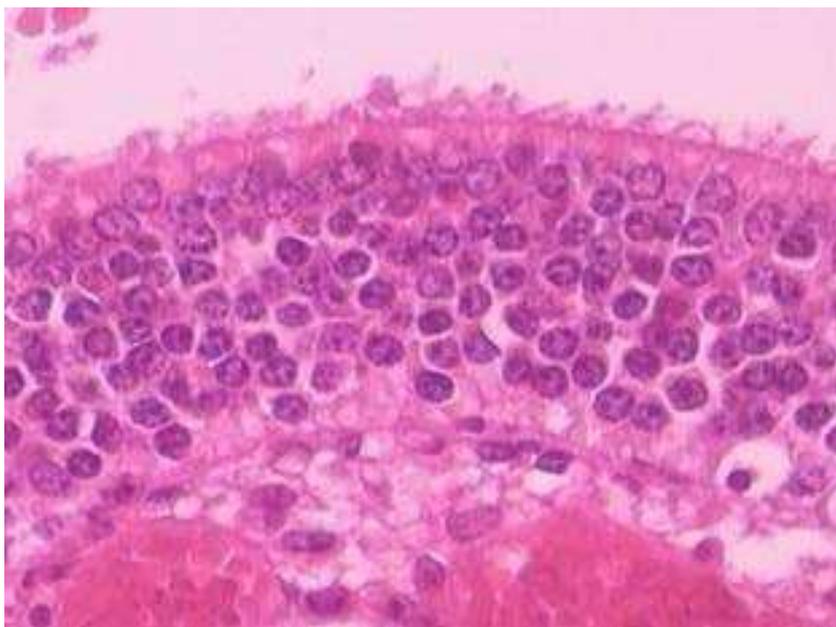


Figura 4A – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia, durante um mês (H.E. 400x).

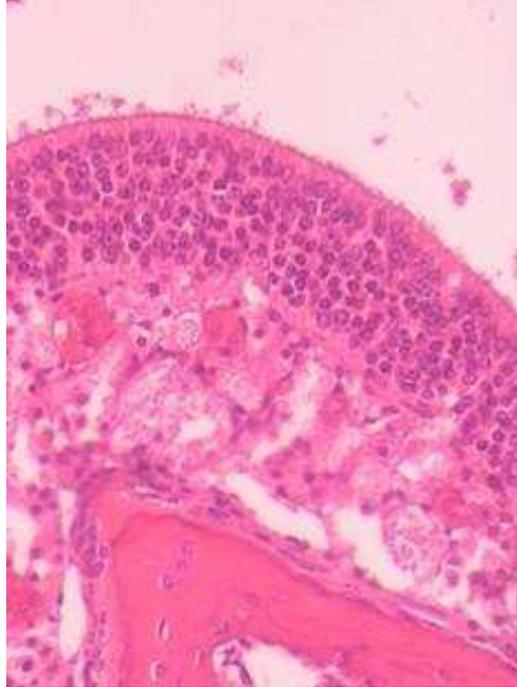


Figura 5A – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia, durante um mês (H.E. 200x).

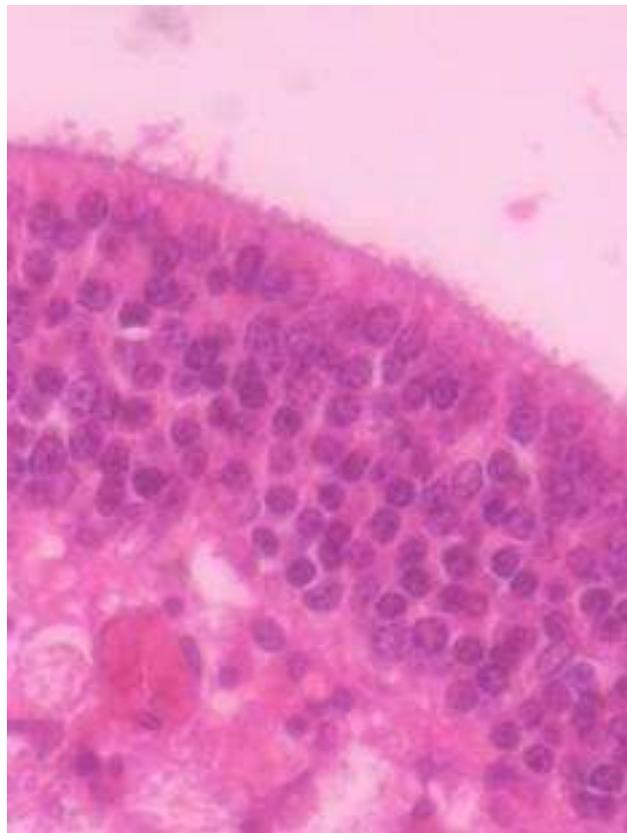


Figura 6A – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia, durante um mês (H.E. 400x).

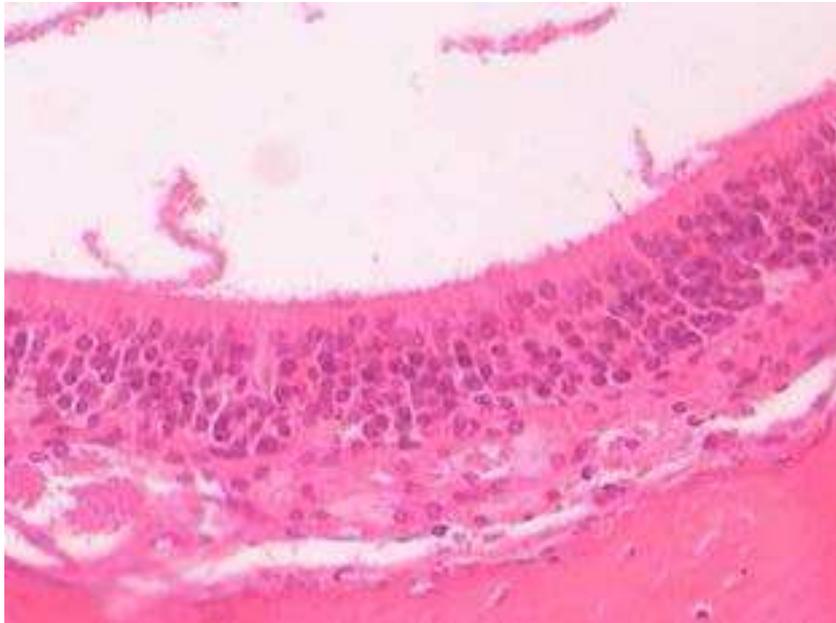


Figura 7A – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia, durante dois meses (H.E. 200x).

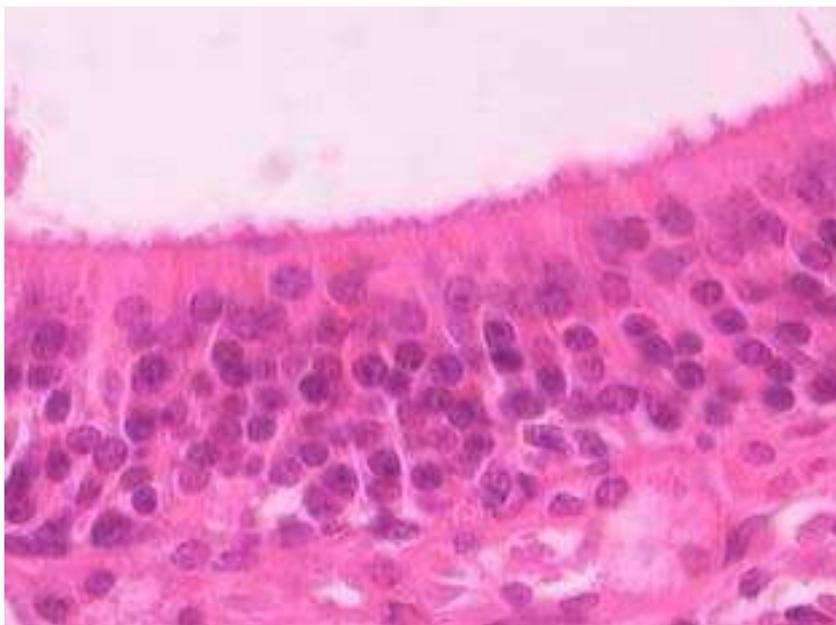


Figura 8A – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia, durante dois meses (H.E. 400x).

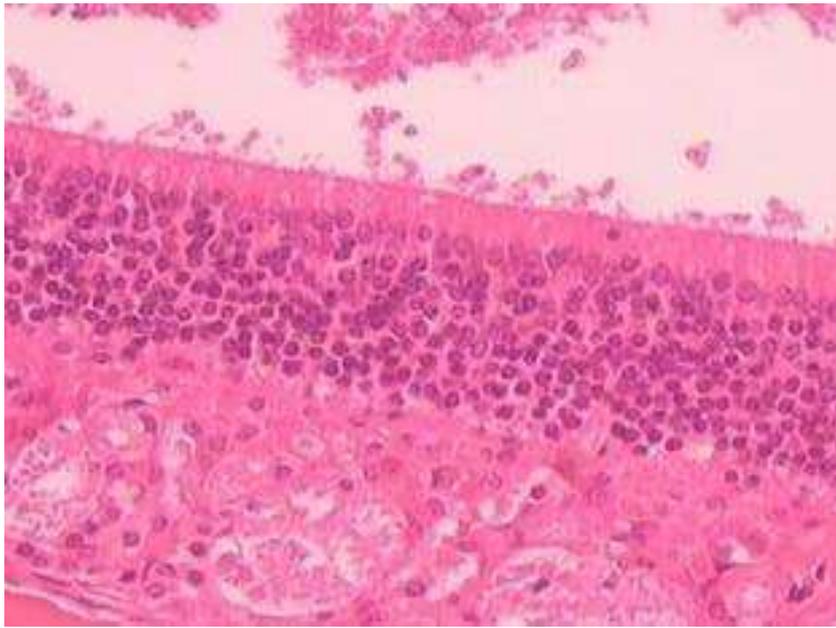


Figura 9A – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia, durante dois meses (H.E. 200x)

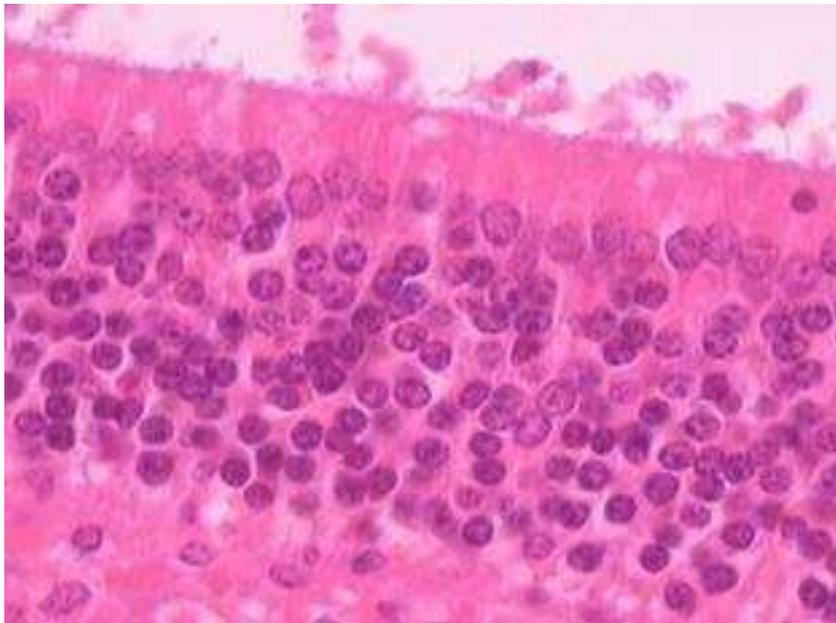


Figura 10A – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia, durante dois meses (H.E. 400x).

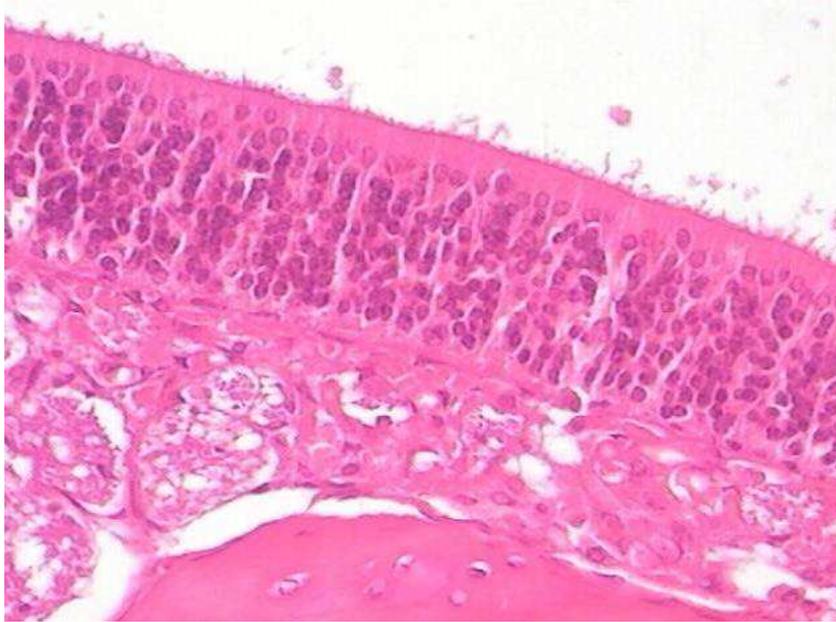


Figura 11A – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia, durante três meses (H.E. 200x).

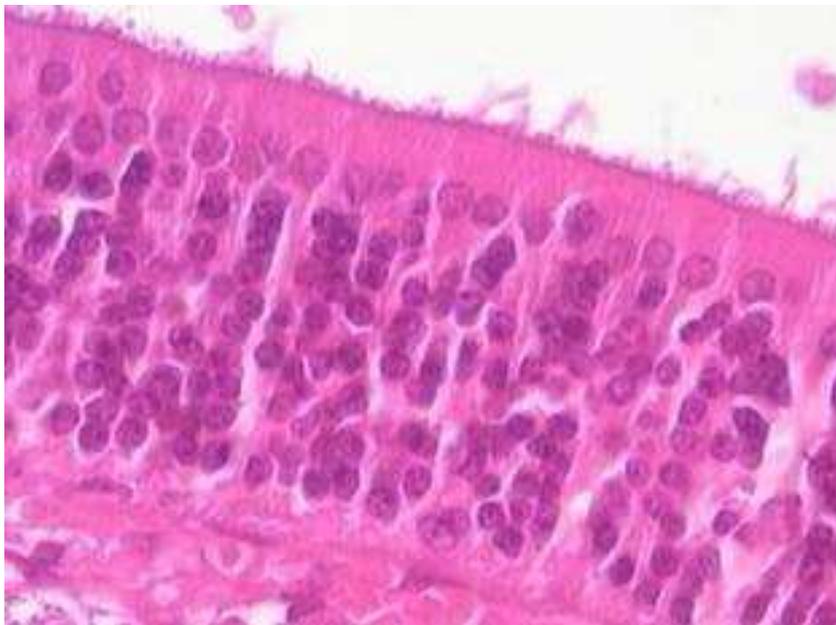


Figura 12A – Epitélio olfatório do grupo exposto a dez cigarros por dia, durante três meses (H.E. 400x).

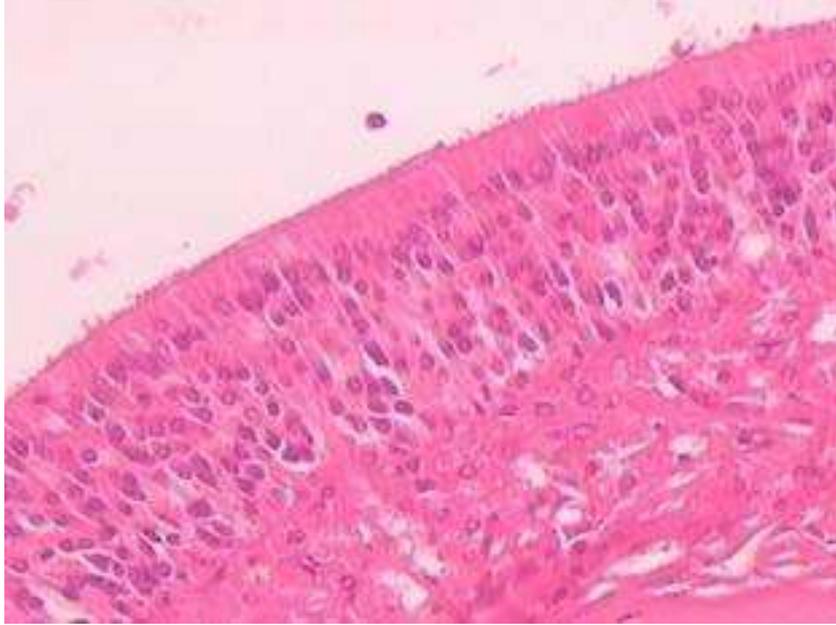


Figura 13A – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia, durante três meses (H.E. 200x).



Figura 14A – Epitélio olfatório do grupo exposto a 20 cigarros por dia, durante três meses (H.E. 400x).

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahlstrom R, Berglund B, Berglund U, Engen T, Lindvall T. A comparison of odor perception in smokers, nonsmokers and passive smokers. *Am. J. Otolaryngol.* 1987; 8:1-G.
- Apter AJ, Mott AE, Spiro JD, Barwink MC. Olfactory loss and allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1992; 90(4):670-80.
- Augusto AGLBS, Ribeiro AS, Gregório T, Starzewski Junior A. Distúrbios do olfato. *Rev. Brasileira de Medicina – ORL Controvérsias e Interfaces*; ano 3, n.3, 2008.
- Boysen M. The surface structure of the human nasal mucosa. Iciliated and metaplastic epithelium in normal in individuals. A correlated study by scanning transmission electron light microscopy. *Virchows Arch. Cell Pathol.* 1982; 40:279-94.
- Brasileiro Filho G, Pitella JEK, Pereira FEL, Bambirra EA. *Bogliolo Patologia.* 5ª Ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 1994. 151p.
- Cavalcante TM. O controle do tabagismo no Brasil: avanços e desafios. *Revista de Psiquiatria Clínica.* 2005; 32(5):283-300.
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, Schoen FJ. *Robbins Patologia Estrutural e Funcional.* 5ª Ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 1996. 43p.
- Dye JA, Morgan KT, Neldon DL, Tepper JS, Burlesn OR, Costa DL. Characterization of upper respiratory disease in rats following neonatal inoculation with a rat- adapted influenza virus. *Vet. Pathol.* 1996; 33(1):43-54.
- Edições Natureza. História do tabaco e seus componentes, agosto 2007 (revista eletrônica). (disponível em: <[www.ednatureza.com.br](http://www.ednatureza.com.br)>).
- Frye RE, Doty RL, Schwartz B. Influence of cigarette smoking on olfaction: evidence for a dose-response relationship. *J Am Med. Assoc.* 1989; 263:1233-6.
- Frye RE, Schwartz BS, Doty R L. Dose-related effects of cigarette smoking on olfactory function. *JAMA.* 1990; 263(9):1233-36.
- Gusic B, Kregina Z, Lakil J, Keric V, Babic J. Damage of respiratory mucous membrane on rats exposure to cold. *Acta Otolaryngol.* 1964; 57:342-51.
- Guyton AC. *Fisiologia Humana.* 6ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. 194-204p.
- Henriques AA, Furtado AD, Vargas AF, Martins CB, do Prado DA, Barreto SSM. Implicações do fumo na gustação e na olfação – revisão do tema. *Rev. Brasileira de Otorrinolaringologia.* 2007; 66:521-26.
- Holley A. *Encyclopédie médico-chirurgicale – Fisiologia, exploración y transtornos de la olfación.* Tomo 3, E-20-285-A-10; 2000.

IARC – INTERNATIONAL ASSOCIATION ON RESEARCH ON CANCER. - Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Tobacco smoking. IARC Scientific Publications 38, 1986.

Katz S. Estudo histopatológico da mucosa nasal de ratos (*Rathus Norvegicus Albinus*). Dissertação (Mestrado). São Paulo: Escola Paulista de Medicina; 1974.

Kelemen G, Sargent F. Nonespermental pathologic nasal findings in laboratory rats. Arch. Otolaryngol. 1946; 44:24-30.

Lundberg JM, Lundblad L, Saria A, Anggard A. Inhibition of cigarette smoke-induced oedema in the nasal mucosa by capsaicin pretreatment and a substance P antagonist. Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol. 1984; 326:181-85,

Maeda Y, Okita W, Ichimura K. Increased nasal patency caused by smoking and contraction of isolated human nasal mucosa. Rhinology. 2004; 42:63-67.

Malaty HA, Sherata MA, Safi MM. A histological and histochemical study of human nasal mucosa in diferents ages. Alex. Med. J. 1970; 15:487-97.

Marcos JAG, Azuara Pliego E, Azuara T, Gispert N, Felix I, Mereles Del Valle R. Alteraciones del epitelio naso-tráqueo-bronquial en ratas expuestas al humo del cigarrillo. An. Soc. Mex. Otorrinolaringol. 1986; 31(2):35-40.

Matulionis D. Ultrastructure of olfactory epithelia in mice afrer smoke exposure. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 1974; 83(2):192-201.

Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer – INCA, Falando sobre Tabagismo. 3ª Ed.; 1998.

Ministério da Saúde/Instituto Nacional de Câncer/Secretaria de Vigilância em Saúde. Inquérito domiciliar sobre comportamentos de risco e morbidade referida de doenças e agravos não-transmissíveis. Rio de Janeiro; 2004.

Moszczyński P, Zabiński Z, Moszczyński P, Rutowski J, SŁowiński S, Tabarowski Z. Immunological findings in cigarette smokers. Toxicology Letters. 2001; 118:121-127.

Nageris B, Braverman I, Hadar T, Hansen MC, Frenkiel S. Effects of passive smoking on odour identification in children. J Otolaryngol. 2001; 30(5):263-265.

Nageris B, Hadar T, Hansen MC. The effects of passive smoking on olfaction in children. Rev. Laryngol Otol Rhinol. 2002; 123(2):89-91.

Organização Mundial de Saúde – OMS. Tobacco or Health Program Guidelines for controlling and monitoring the tobacco epidemic. Geneva, Switzerland; 1996.

Organização Mundial de Saúde – OMS. An International Framework Convention for Tobacco Control. Fact Sheet no. 160, revised May 1998. Disponível em: <<http://www.who.int/inf-fs/en/fact160.html>>. Acesso em: 12 abr.1998.

Organização Mundial de Saúde – OMS. Making a difference. World Health Report. Geneve, Switzerland; 1999.

Organização Mundial de Saúde – OMS. Confronting the Tobacco Epidemic in an Era of Trade Liberalization. WHO/NMH/TFI/01.4; 2001b.

Organização Mundial da Saúde – OMS. Disponível em: <[http://who.int/tobacco/helth\\_impact/en/](http://who.int/tobacco/helth_impact/en/)>. Acesso em: agosto de 2003.

Pan American Health Organization – PAHO. Profits over people – Tobacco Industry Activities to Market Cigarettes and Undermine Public Health in Latin America and Caribbean. November 2002.

Phillips DE, Hill L, Weller P, Willett M, Bakewell R. Tobacco smoke and the upper airway. *Clean. Otolaringol.* 2003; 28:492-96.

Sacre-Hazouri JA, Davidson T, Jalowayski A, Murphy C. Disfunción del olfato. *Alergia México.* 2000; 47:87-93.

Schiffman SS. Taste and smell in disease. *N Eng. J Med.* 1983; 308:1275-7.

Topozada YH, Michaels L, Topozada M, El-Chazzani I, Talaat M, Elwany S. The human respiratory nasal mucosa in pregnancy an electron microscopic and histochemical study. *J. Laryngol. Otol.* 1982; 96:613-26.

US Surgeon-General – The health consequences of smoking: chronic obstructive lung disease. US Department of Health and Human Services, Washington, DC; 1984.

Vent J, Bartels S, Haynatzki G, Gentry-Nielsen MJ, Leopold DA, Hallworth R. The impact of ethanol and tobacco smoke on intranasal epithelium in the rat. *American Journal of Rhinology.* 2003; 17(4):241-47.

Vent J, Robinson AM, Gentry-Nielsen MJ, Conley DB, Hallworth R, Leopold DA, Kern RC. Pathology of the ofactory ephelium: smoking and ethanol exposure. *The Laryngoscope.* 2004; 114:1383-1388.

Vinke JG, KleinJan A, Severijnen LWFM, Fokkens WJ. Passive smoking causes an “allergic” cell infiltrate in the nasal mucosa of non-atopic children. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology.* 1999; 51:73-81.

Wolf DC, Morgan KT, Gross EA, Barrow C, Moss OR, James RA, Popp JA. Two year inhalation exposure of female and male B6 C3 F1 mice and F344 rats to chlorine gas induces lesions confined to the nose. *Fundam Appl Toxicol.* 1995; 24(1):111-31.

Young B, Lowe JS, Stevens A, Heath JW. Wheater histologia funcional. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007; 400-02p.

## **FONTES CONSULTADAS**

Ferreira A B H - Novo Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa. 2ª Ed. Rio de Janeiro; 1986.

Normatização para apresentação de dissertações e teses. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2004.

[www.opas.org.br](http://www.opas.org.br) – site da Organização Pan-Americana de Saúde.

[www.saude.gov.br](http://www.saude.gov.br) – site do Ministério da Saúde.

[www.who.int](http://www.who.int) – site da World Health Association (Organização Mundial de Saúde).

## RESUMO

**Título: AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO EPITÉLIO OLFATÓRIO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO FUMO PASSIVO EM TEMPO E QUANTIDADES VARIÁVEIS.**

**Autor: Fabiano Haddad Brandão**

**Palavras chave: Tabagismo, Poluição por fumaça de tabaco, Olfato, Mucosa olfatória, Histologia, Camundongos**

Foi realizado um estudo, através de projeto em camundongos, sobre os efeitos que o tabagismo passivo pode causar ao epitélio olfatório, através de estudo histológico. Os camundongos foram expostos ao tabagismo passivo e divididos em grupos que foram submetidos a dez ou 20 cigarros por dia, por um, dois e três meses. Os camundongos foram expostos diariamente ao cigarro, conforme o seu respectivo grupo. Realizou-se posteriormente a comparação por microscopia óptica do epitélio olfatório desses camundongos, sendo as lâminas coradas com hematoxilina-eosina, com cortes em sentido coronal, e analisadas em 200 e 400x. O estudo histológico, através das lâminas do epitélio olfatório, não mostrou diferença significativa em relação ao grupo-controle. No entanto, os resultados encontrados neste trabalho com camundongos não pode corresponder ao que ocorreria em humanos, pelas diferenças entre o epitélio olfatório animal e o do ser humano.

## **ABSTRACT**

**Title: AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO EPITÉLIO OLFATÓRIO DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO FUMO PASSIVO EM TEMPO E QUANTIDADES VARIÁVEIS.**

**Author: Fabiano Haddad Brandão**

**Key words: Smoking, Tobacco smoke pollution, Smell, Olfactory mucosa, Histology, Mice**

A project of study histological study was conducted to study the effect of passive smoking on the olfactory epithelium in mice. The mice were divided into groups and exposed to passive smoking corresponding to 10 or 20 cigarettes per day, for two or three months. This was followed by a comparison of optical microscopy of the olfactory epithelium in hematoxylin-eosin-stained plates with coronal cuts, analyzed at 200 and 400 magnification. A study of the olfactory epithelium plates did not show significant differences compared to the control group. However, the results of this study may not correspond to that in humans due to differences in olfactory epithelium between mice and men.

## **9. APÊNDICE**



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP



UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
Comitê de Ética em Pesquisas  
Registro CONEP n.º 306  
Aprovado em 16/05/2000

## PARECER N.º 121/2007

### REGISTRO CEP UNISA N.º 007/07

**Projeto de Pesquisa:** "Alterações anátomo- patológicas na Laringe, Faringe e Epitélio olfatório em camundongos expostos ao tabagismo passivo".

**Pesquisadores Responsáveis:** Prof. Fabiano Haddad Brandão Co-orientadora: Profª Drª. Maria Rosa Machado de S. Carvalho  
Graduanda: Sílvia Gonçalves R. de Faria

**Faculdade:** Medicina

Prezado Docente:

Ao se proceder à análise do processo em questão, cabe a seguinte consideração:

As informações apresentadas atendem aos aspectos fundamentais da Lei Estadual 11.977 de 25 de agosto de 2005 que instituiu o Código de Proteção aos Animais do Estado.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas da UNISA, no uso de suas atribuições, manifesta-se pela **APROVAÇÃO** do projeto, "Alterações anátomo- patológicas na Laringe, Faringe e Epitélio olfatório em camundongos expostos ao tabagismo passivo".

São Paulo, 12 de dezembro de 2007

**PROF. DR. CARLOS DE SOUSA LUCCI**  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa  
UNISA - Universidade de Santo Amaro

**Parecer Consubstanciado de Projeto**

**Título do Projeto:** Alterações anátomo- patológicas na Laringe, Faringe e Epitélio olfatório em camundongos expostos ao tabagismo passivo.

**Pesquisador Responsável** Prof. Fabiano Haddad Brandão **Co-orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Rosa Machado de S. Carvalho

**Graduanda:** Sylvia Gonçalves R. de Faria

Data da Versão

Cadastro 007

Data do Parecer 12/12/2007

**Grupo e Área Temática** 1.5 Novos procedimentos

**Objetivos do Projeto**

Existem atualmente por volta de um bilhão de fumantes em todo o mundo. O cigarro, além do seu poder de causar doenças do sistema respiratório é apontado como o principal fator de risco para câncer em região de faringe e laringe, graças aos seus componentes cancerígenos, como exemplo o Alcatrão. A fumaça quando inalada é composta por muitas partículas de substâncias carcinogênicas e é a responsável pelo transporte destas até os pulmões, faringe e laringe produzindo patologias nestes órgãos.

**Sumário do Projeto**

O projeto de pesquisa, utilizará 24 camundongos da raça Swiss, sexo feminino, com 7 semanas de idade, que serão expostos ao tabagismo passivo, divididos em grupos que serão submetidos a diferentes doses diárias de cigarro( 10 e 20 cigarros /dia) e por diferente período de exposição ( 2,3 e4 meses), visando simular nos animais, as condições em que se apresentam os indivíduos que convivem com fumantes e através de estudo anátomo-patológico de laringe, faringe e epitélio olfatório, poder identificar possíveis diferenças no poder lesivo do cigarro.

<i>Aspectos relevantes para avaliação</i>	<i>Situação</i>
Título	Adequado
Relação dos Pesquisadores	Adequada
Local de Origem na Instituição	Adequado
Projeto elaborado por patrocinador	Sim
Local de Realização	Própria instituição
Outras instituições envolvidas	Não
Condições para realização	Adequadas
Introdução	Adequada
Objetivos	Adequados
Método	
Tipo de projeto	Pesquisa em Animais
Delineamento	Adequado
Tamanho de amostra	Total Na Instituição sim
Cálculo do tamanho da amostra	Adequado
Participantes pertencentes a grupos especiais	Não
Seleção eqüitativa dos indivíduos participantes	Adequada
Critérios de inclusão e exclusão	Adequados
Relação risco- benefício	Adequada
Uso de placebo	Não utiliza
Período de suspensão de uso de drogas (wash out)	Não utiliza
Monitoramento da segurança e dados	Adequado
Armazenamento de material biológico	Adequado
Instrumentos de coleta de dados	Adequados
Avaliação dos dados	Adequada - quantitativa
Privacidade e confidencialidade	Adequada
Termo de Consentimento	Adequado
Adequação às Normas e Diretrizes	Sim
Cronograma	Adequado

Data de início prevista	01/01/2008
Data de término prevista	31/12/2008
Orçamento	Adequado
Solicita recursos à instituição	Não
Fonte de financiamento externa	Não
Referências Bibliográficas	Adequadas

Recomendação

**Aprovar**

Comentários Gerais sobre o Projeto

O projeto tem importância científica ao estudar alterações anatomo patológicas em camundongos expostos ao tabagismo passivo.

São Paulo, 12 de Dezembro de 2007.

  
PROF. DR. CARLOS DE SOUSA LÚCCI  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisas  
UNISA - Universidade de Santo Amaro

# 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](#)