

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Presidente Prudente

RAFAELLA FAGUNDES XAVIER

**TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL EM FUMANTES PARTICIPANTES
DE UM PROGRAMA DE CESSAÇÃO DO TABAGISMO**



**PRESIDENTE PRUDENTE
2011**

Faculdade de Ciências e Tecnologia
Seção de Pós-Graduação
Rua Roberto Simonsen, 305 CEP 19060-900 Presidente Prudente SP
Tel 18 229-5352 fax 18 223-4519 posgrad@prudente.unesp.br



RAFAELLA FAGUNDES XAVIER

**TRANSPORTE MUCOCILIAR NASAL EM FUMANTES PARTICIPANTES
DE UM PROGRAMA DE CESSAÇÃO DO TABAGISMO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, campus de Presidente Prudente, para obtenção do título de Mestre no programa de Pós-graduação em Fisioterapia.

Orientadora: Prof^aDr^a Ercy Mara Cipulo Ramos

**PRESIDENTE PRUDENTE
2011**

X23t Xavier, Rafaella Fagundes.
Transporte mucociliar em fumantes participantes de um programa de
cessação do tabagismo / Rafaella Fagundes Xavier. - Presidente Prudente :
[s.n], ano
--- 106f. : il.

Orientador: Ercy Mara Cipulo Ramos
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências e Tecnologia
Inclui bibliografia

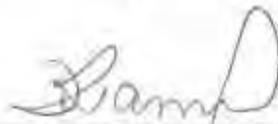
1. Tabagismo. 2. Transporte mucociliar. 3. Cessação. I. Ramos, Ercy
Mara Cipulo. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e
Tecnologia. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Campus de Presidente Prudente.

BANCA EXAMINADORA



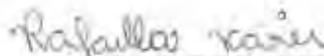
PROFA. DRA. ERCY MARA CIPULO RAMOS
(ORIENTADORA)



PROFA. DRA. DIONEI RAMOS
(FCT/UNESP)



PROFA. DRA. MARIÂNGELA MACCHIONE
(FMUSP)



RAFAELLA FAGUNDES XAVIER

PRESIDENTE PRUDENTE (SP), 14 DE DEZEMBRO DE 2011.

RESULTADO: Aprovado

Dedicatória

*Dedico este trabalho a minha mãe, que sempre me apoiou em todas as fases da
minha vida.*

Agradecimientos

Á minha orientadora, Profª Drª Ercy Mara Cipulo Ramos, que desde a minha graduação me incentivou e proporcionou meios para que pudesse iniciar o caminho da ciência. Agradeço por todos estes anos de imenso aprendizado, por toda a dedicação e pela amizade construída durante este caminho, foi um privilegio ter recebido sua orientação.

Á Profª Drª Dionei Ramos por todo o apoio, disponibilidade e grande contribuição intelectual e científica durante estes anos de convivência.

Á Profª Drª Alessandra Choqueta de Toledo por contribuir de maneira tão generosa na elaboração deste projeto de pesquisa, obrigada por toda a disponibilidade, paciência e pelos vastos ensinamentos.

Aos amigos do Laboratório de Estudos do Aparelho Muco-secretor (LEAMS) agradeço pelos momentos de contribuição intelectual e também pelos momentos de descontração. Em especial agradeço a Aline Duarte Ferreira, a Giovana Navarro Bertolini e ao Luiz Carlos Carvalho Junior pelo companheirismo, pela ajuda em todas as coletas, por sempre me ouvirem nos momentos difíceis e principalmente pela amizade realizada durante esta jornada.

Aos alunos de iniciação científica por toda a colaboração, especialmente a Juliana Tiyaki Ito por permanecer sempre ao meu lado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, pelos ensinamentos que contribuíram para o término de mais esta etapa.

Agradeço, primordialmente, a Deus por ter me concedido esta oportunidade de crescimento pessoal e intelectual.

Á minha família, minha mãe, meu padrasto e meu irmão, por todo o amor, companheirismo e dedicação. Esta jornada não seria possível sem o apoio e incentivo de vocês.

Agradeço também, aos meus avôs maternos que mesmo não mais presentes, foram fundamentais em minha formação.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Muito Obrigada!

Επίγραφε

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos”

Eleanor Roosevelt

Sumário

SUMÁRIO

Apresentação	15
Resumo	18
Abstract	19
Introdução	24
Artigo 1: Efeitos da intensidade de consumo tabagístico no transporte mucociliar de fumantes ativos.....	30
Artigo 2: Reversibilidade do clearance mucociliar nasal prejudicado em fumantes após um programa de cessação do tabagismo.....	57
Conclusões:	83
Referências:	85
Anexos	

A apresentação

Este modelo alternativo de dissertação contempla o material originado a partir da pesquisa intitulada “**Transporte Mucociliar Nasal em Fumantes Participantes de um Programa de cessação do Tabagismo**”, realizada no Laboratório de Estudos do Aparelho Muco-secretor (LEAMS), da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP, campus de Presidente Prudente.

Em consonância com as regras do programa de pós-graduação em Fisioterapia desta unidade, o presente material está dividido nas seguintes sessões:

- *Resumo*;

- *Abstract*;

- *Introdução*: contextualização do tema pesquisado;

- **Artigo I**: Rafaella Fagundes Xavier, Dionei Ramos, Alessandra Choqueta de Toledo, Ercy Mara Cípulo Ramos. Efeitos da intensidade de consumo tabagístico no transporte mucociliar de fumantes ativos (Effects of tobacco consumption intensity in mucociliary clearance of active smokers). Á ser submetido ao periódico *Respirology*.

- **Artigo II**: Ercy Mara Cípulo Ramos, Dionei Ramos, Rafaella Fagundes Xavier, Luciana Cristina Fosco, Rodolfo Paula Vieira, Dionei Ramos e José Roberto Jardim. Reversibilidade do clearance mucociliar nasal prejudicado em fumantes após um programa de cessação do tabagismo (Reversibility of impaired nasal mucociliary clearance in smokers following a smoking cessation programme). Publicado em *Respirology*, v. 16, n. 5, p.849-855, 2011.

- *Conclusões*: obtidas a partir da pesquisa realizada;

- *Referências*: referentes ao texto da introdução;

- *Anexos*: O anexo 1 é referente as normas do Periódico *Respirology*, de acordo com o qual os artigos foram redigidos.

Anexo 2 é referente ao artigo em seu formato original publicado no periódico *Respirology*.

Resumo

Introdução: A exposição ao cigarro promove alterações que prejudicam a eficácia do transporte mucociliar. Contudo, a influência da intensidade de exposição, assim como os efeitos da abstinência ao tabagismo sobre essas alterações foram pouco elucidados. **Objetivos:** Avaliar a influência de diferentes intensidades de exposição ao cigarro sobre o transporte mucociliar e o efeito da cessação do tabagismo sobre o transporte mucociliar nasal em fumantes avaliados durante um período de 180 dias. **Casística e Métodos:** Participantes de um programa de cessação ao tabagismo, foram avaliados quanto ao histórico tabagístico, ao nível de dependência à nicotina, à avaliação da função pulmonar (espirometria), a concentração de monóxido de carbono no ar exalado (COex), ao nível de carboxihemoglobina (COHb) e ao transporte mucociliar (tempo de trânsito de sacarina – TTS). Para comparação foi avaliado um grupo de não fumantes por meio dos mesmos testes. **Resultados:** Fumantes moderados (n=34; 49±7 anos; 26±4 Kg/m² e 29±9 anos de fumo) e intensos (n=27; 46±8 anos; 26±5 Kg/m² e 32±8 anos de fumo) apresentaram maior TTS ($P=0,0001$), COex ($P<0,0001$) e COHb ($P<0,0001$) que fumantes leves (n=14; 51±15 anos; 25±3 Kg/m² e 34±13 anos de fumo) e não fumantes (n= 24; 50±11 anos e 26±4 Kg/m²). Trinta e três fumantes (49±12 anos e 44±25anos/maço) participantes do programa foram avaliados após a cessação do tabagismo, 27% (n = 9) se mantiveram abstinentes por 180 dias, 30% (n=11) por 120 dias, 49,5% por 30 dias e 75,9% (n=23) por 15 dias. O TTS de fumantes foi maior que de não fumantes ($P=0,002$), os valores de COex e COHb também foram maiores em fumantes que não fumantes ($P<0,01$). O TTS dos fumantes abstinentes reduziu para valores dentro da faixa de normalidade após 15 dias de cessação ($P<0,01$) e permaneceu nesta faixa até o final do estudo. Da mesma forma os valores de COex foram reduzidos após sete dias de cessação. **Conclusões:** O tabagismo prejudica o transporte mucociliar e estes prejuízos são influenciados pela intensidade de exposição ao tabaco. Além

disso, somente após 15 dias de abstinência ao tabagismo foi observada melhora no transporte mucociliar, efeito positivo que se manteve por um período de seis meses de acompanhamento.

Introduction: Exposure to cigarette smoke promotes changes that harm the effectiveness of the mucociliary clearance. However, the influence of the intensity of exposure, as well as the effects of abstinence from smoking on these changes is poorly understood. **Objectives:** To assess the influence of different intensities of exposure to cigarette smoke on mucociliary clearance and the effect of cessation of smoking on nasal mucociliary clearance in smokers evaluated over a period of 180 days. **Methods:** Participants from a smoking cessation programme, were evaluated about smoking behavior, level of nicotine dependence, lung function (spirometry), the carbon monoxide in exhaled air (exhaled CO), the carboxyhemoglobin (COHb) and mucociliary clearance (saccharin transit time - STT). Was evaluated for comparison a group of non smokers through the same tests. **Results:** Moderate Smokers (n = 34, 49 ± 7 years, 26 ± 4 kg/m² and 29 ± 9 years of smoking) and severe smokers (n = 27, 46 ± 8 years, 26 ± 5 kg/m² and 32 ± 8 years of smoking) had higher STT (P = 0.0001), exhaled CO (P <0.0001) and COHb (P <0.0001) than light smokers (n = 14, 51 ± 15 years, 25 ± 3 kg / m² and 34 ± 13 years of smoking) and non smokers (n = 24, 50 ± 11 years and 26 ± 4 kg/m²). Thirty-three smokers (49 ± 12 and ± 44 25anos/maço) participants from a smoking cessation programme were evaluated after smoking cessation, 27% (n = 9) remained abstinent for 180 days, 30% (n = 11) for 120 days, 49.5% for 30 days and 75.9% (n = 23) for 15 days. The STT of smokers was higher than nonsmokers (P = 0.002), the exhaled CO and COHb values were also higher in smokers than nonsmokers (P <0.01). The STT abstinent smokers reduced to within the normal range after 15 days of cessation (P <0.01) and remained in this range until the end of the study. In the same way exhaled CO values were reduced after seven days of abstinence. **Conclusions:** Cigarette smoking impairs mucociliary clearance and these harmful are influenced by the intensity of tobacco exposure. Furthermore, only after 15 days of abstinence smoking was observed improvement in

mucociliary clearance, which remained positive effect for a period of six months follow-up.

Introdução

INTRODUÇÃO

O tabagismo é considerado uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e caracteriza-se pelo uso abusivo do tabaco e a intoxicação decorrente deste abuso.¹

O fumo do tabaco é a principal causa de morte evitável no mundo. Aproximadamente, seis milhões de pessoas morrem no mundo por doenças provocadas pelo tabagismo a cada ano e estima-se que em 2030 esse número aumentará para oito milhões por ano.²

Existem cerca de 4.720 substâncias químicas no cigarro, com efeitos cancerígenos, mutagênicos, tóxicos e irritantes.³ A agressão provocada por essas substâncias causa alterações sistêmicas e afeta de forma intensa o trato respiratório. A exposição à fumaça do cigarro estimula inúmeras células pulmonares, inclusive as do epitélio respiratório.^{4,5,6} Há um remodelamento epitelial com aumento do número de células caliciformes e hipertrofia das células mucosas, as quais propiciam um aumento considerável na produção de muco e geram prejuízo ao transporte mucociliar.^{7,8,9}

O transporte mucociliar é um mecanismo de defesa muito importante do trato respiratório, pois é por meio deste que os agentes agressores são carregados e expelidos. O funcionamento adequado deste mecanismo depende da estrutura, sincronia e frequência do batimento ciliar, além da quantidade e qualidade da secreção brônquica.¹⁰

Estudos mostram que a fumaça de cigarro induz a apoptose em células respiratórias ciliadas, efeitos pró-apoptóticos dependendo da concentração da fumaça de cigarro ou ainda prejuízo na regeneração epitelial.^{11,12} Estudos experimentais demonstram que a exposição crônica a fumaça do cigarro promove alterações morfológicas no epitélio de todo o trato respiratório, desde hiperplasia até perda de cílios e metaplasia, além de espessamento e

inflamação submucosa com infiltrado neutrofílico e células inflamatórias mononucleares.¹³ Agius et al demonstraram que a cotinina, um metabolito tóxico da nicotina é capaz de reduzir de maneira significativa o batimento ciliar de células epiteliais *in vitro*.¹⁴

Além disso, a fumaça do cigarro também esta associada a alterações nos mecanismos de produção de muco. A exposição crônica a essa fumaça provoca alterações metaplásicas da mucosa respiratória com aumento no número e tamanho das células caliciformes, com conseqüente aumento da quantidade de secreção nas vias aéreas.^{15,16} Estudos *in vitro* demonstraram que a exposição a fumaça do cigarro inibe o transporte de cloreto em células epiteliais, promovendo alterações fisiológicas semelhantes aquelas encontradas em pacientes com fibrose cística.^{17,18}

Assim, observamos que a exposição à fumaça de cigarro altera a eficácia do transporte mucociliar.^{19,20} A deficiência neste sistema de transporte leva ao aumento da frequência e da severidade de infecções do trato respiratório e estas infecções podem estar associadas à intensidade de exposição ao cigarro.²¹⁻²³ Ozlu *et al.* mostrou maior aderência bacteriana nas células epiteliais de ratos expostos ao cigarro quando comparados aos não expostos, e que essa aderência foi maior em ratos submetidos a altas exposições.²⁴

A avaliação do transporte mucociliar pode ser realizada por meio do teste do tempo de transito de sacarina (TTS), uma técnica amplamente utilizada em estudos científicos para análise do transporte mucociliar nasal. Há evidências na literatura que mostram uma boa correlação entre a depuração mucociliar traqueobrônquica e nasal, além de ser uma técnica de simples execução, por não causar desconforto, e por seu baixo custo.^{25,26}

Estudos têm mostrado que em tabagistas crônicos o tempo de trânsito de sacarina (TTS) está aumentado.²⁷⁻²⁹ Nakagawa *et al.* compararam o transporte mucociliar entre fumantes e

não fumantes e encontrou que além de reduzido nos tabagistas, ocorre uma piora quando estes indivíduos são hospitalizados com quadro agudo.³⁰

Proença *et al.* também observaram maior TTS em tabagistas comparados à não tabagistas e que o TTS está diretamente relacionado ao número de cigarros consumidos diariamente, ao tempo de fumo e ao índice anos/maço, mostrando que o prejuízo causado pelo cigarro está relacionado a intensidade de exposição ao tabaco.³¹

Além dos prejuízos causados no trato respiratório, estudos demonstra que tabagistas apresentam maiores níveis de monóxido de carbono no ar exalado (COex) que não tabagistas. O monóxido de carbono é um constituinte da fumaça do cigarro e é encontrado na circulação sanguínea de tabagistas na forma de carboxihemoglobina (COHb). A eliminação do monóxido de carbono ocorre primariamente pela respiração, portanto, há uma forte correlação entre os valores de COex e de COHb.^{32,33}

O monóxido de carbono é produzido endogenamente, principalmente, durante condições de estresse oxidativo e inflamação, observadas em algumas doenças pulmonares inflamatórias como DPOC e asma.³⁴

Para classificar estes indivíduos em tabagistas e não tabagistas de acordo com os níveis de COex deve ser utilizado um ponto de corte maior, isto porque estes indivíduos apresentam níveis elevados de COex, que está relacionado ao estresse oxidativo e ao processo inflamatório presente nestes indivíduos, principalmente durante exacerbações.^{35,36}

Assim, a mensuração dos níveis de COex reflete os níveis de estresse oxidativo induzidos pela fumaça do cigarro, e estudos demonstram que este estresse oxidativo pode alterar o transporte mucociliar de tabagistas.³⁷

Desta forma, é evidente que o tabagismo prejudica o transporte mucociliar, além de causar alterações sistêmicas no organismo. O fumo é fator causal de aproximadamente 50 doenças diferentes, destacando-se as doenças cardiovasculares, o câncer e as doenças respiratórias obstrutivas crônicas. O tabagismo responde atualmente por 40 a 45% de todas as mortes por câncer, 90 a 95% das mortes por câncer de pulmão, 75% das mortes por doença pulmonar obstrutiva crônica e 20% das mortes por doenças vasculares.³⁸

Entretanto, a cessação do tabagismo é considerada um marco potencial para promover benefícios a saúde e reduzir a morbidade e mortalidade por doenças tabaco relacionadas.³⁹ No Brasil, a luta anti-tabaco data de 1975 e são conhecidos inúmeros benefícios da abstinência ao tabaco: melhora da auto-estima, olfato e paladar; em vinte minutos há diminuição da pressão sanguínea e frequência cardíaca; a nicotina circulante em duas horas é metabolizada; após doze horas o nível de monóxido de carbono se normaliza; após um dia, o risco de infarto do miocárdio é reduzido; em três dias os brônquios relaxam e tem-se uma melhora na capacidade respiratória; um ano sem fumar o risco de doença coronariana cai pela metade, e em dez anos esse valor se iguala ao de uma pessoa que nunca fumou.^{40,41} No entanto, os achados referentes aos efeitos da abstinência sobre o comportamento da transportabilidade ciliar ao longo do período de abstinência são escassos.

Tabagistas que param de fumar antes dos 50 anos têm metade do risco de morrer nos próximos 15 anos, comparado aqueles que continuam a fumar; no entanto, não é fácil parar de fumar.⁴²

Cerca de 70% dos fumantes que residem em países em desenvolvimento querem parar de fumar, porém apenas poucos conseguem ter sucesso.⁴³ Na ausência de qualquer intervenção apenas 6% das tentativas de parar de fumar obtêm sucesso.⁴⁴

Programas de cessação do tabagismo são considerados como o método mais eficaz de reduzir a mortalidade e a morbidade por doenças tabaco relacionadas.⁴⁵ As taxas de cessação do tabagismo alcançadas em programas que associam a terapia cognitivo comportamental a terapia medicamentosa são de 25-30% em 1 ano acompanhamento.⁴⁶

A partir dessas evidências preliminares observa-se que está bem descrito na literatura que o tabagismo prejudica o transporte mucociliar e que a cessação do tabagismo promove efeitos benéficos no organismo, porém não está bem esclarecido a associação entre o comportamento do transporte mucociliar em resposta à diferentes níveis de consumo tabagístico, e tão pouco o seu comportamento ao longo de um período de abstinência.

Por esta razão, os objetivos dos estudos presentes nesta dissertação foram os seguintes:

- Avaliar o transporte mucociliar de fumantes em diferentes intensidades de exposição.
- Avaliar o efeito da cessação do tabagismo sobre o transporte mucociliar nasal em fumantes avaliados durante um período de 180 dias

Artigo 1

Efeitos da intensidade de consumo tabagístico no transporte mucociliar de fumantes ativos

Effects of tobacco consumption intensity in mucociliary clearance of active smokers

Rafaella Fagundes Xavier,¹ Dionei Ramos,¹ Alessandra Choqueta de Toledo,¹ Ercy
Mara Cipulo Ramos¹

1- Department of Physiotherapy, São Paulo State University (UNESP), Presidente Prudente,
Brazil.

Correspondence:

Ercy Mara Cipulo Ramos

Departamento de Fisioterapia, Faculdade de Ciências e Tecnologia

UNESP, Universidade Estadual Paulista

Rua Roberto Simonsen, nº 305

19060-900, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil

Tel.: +55 18 32295821 - Fax: +55 18 32295550

E-mail: ercy@fct.unesp.br

SUMMARY AT A GLANCE

Moderate and heavy smokers showed impairment of mucociliary clearance and larger values of exhaled CO and COHb compared to light and non-smokers.

RESUMO

Justificativa e objetivo: A eficiência do transporte mucociliar pode variar em diferentes condições, como na exposição a partículas nocivas da fumaça do cigarro. O presente estudo avaliou o efeito do nível de exposição ao tabagismo no transporte mucociliar de fumantes.

Métodos: Foram avaliados 117 indivíduos, 75 fumantes ativos divididos em fumantes leves (até 10 cigarros; n=14), moderados (de 11 a 20 cigarros; n=34) e intensos (a partir de 21 cigarros; n=27) foram avaliados, antes de iniciar um programa de cessação ao antitabagismo. Os indivíduos foram avaliados quanto ao histórico tabagístico, ao nível de dependência à nicotina, à avaliação da função pulmonar (espirometria), a concentração de monóxido de carbono no ar exalado (COex), ao nível de carboxihemoglobina (COHb) e ao transporte mucociliar (tempo de trânsito de sacarina – TTS). Para comparação, um grupo pareado composto por 24 indivíduos saudáveis não-fumantes foi avaliado por meio dos mesmos testes. Foram excluídos 18 indivíduos por não apresentarem função pulmonar normal. **Resultados:** Fumantes moderados (49±7 anos; 26±4 Kg/m² e 29±9 anos de fumo) e intensos (46±8 anos; 26±5 Kg/m² e 32±8 anos de fumo) apresentaram maior TTS ($P=0,0001$), COex ($P<0,0001$) e COHb ($P<0,0001$) que fumantes leves (51±15 anos; 25±3 Kg/m² e 34±13 anos de fumo) e não fumantes (50±11 anos e 26±4 Kg/m²). **Conclusão:** O fumo prejudica o transporte mucociliar e a intensidade deste prejuízo está diretamente relacionada ao número de cigarros consumidos por dia.

Palavras-chave: epitélio respiratório, fumo, lesão por inalação do tabaco, tabagismo, transporte mucociliar.

ABSTRACT

Background and objective: Mucociliary clearance can be influenced by different conditions such as exposure to cigarette smoke. This study evaluated the effects of exposure intensities to cigarette smoke on mucociliary clearance in smokers. **Methods:** Were evaluated 117 individuals, 75 active smokers divided into light (up to 10 cigarettes; n=10), moderate (11-20 cigarettes; n=34) and heavy (from 21 cigarettes; n=27) smokers before starting a smoking cessation programme. Were evaluated their smoking behavior, the nicotine dependence, lung function, carbon monoxide in exhaled air (exhaled CO), carbohemoglobin (COHb) and mucociliary clearance (saccharin transit time STT). A matched control group of 24 healthy non-smokers was assessed using the same tests. Were excluded 18 subjects for not having normal lung function. **Results:** Moderate smokers (n = 34, 49 ± 7 years, 26 ± 4 kg/m² and 29 ± 9 years of smoking) and severe smokers (n = 27, 46 ± 8 years, 26 ± 5 kg/m² and 32 ± 8 years smoking) had higher STT (P = 0.0001), exhaled CO (P <0.0001) and COHb (P <0.0001) than light smokers (n = 14, 51 ± 15 years, and 25 ± 3 kg/m² 34 ± 13 years of smoking) and nonsmokers (n = 24, 50 ± 11 years and 26 ± 4 kg/m²). **Conclusion:** The smoke impairs mucociliary clearance and the damage intensity is directly related to the cigarettes consumption per day.

Keywords: mucociliary transport, respiratory epithelium, smoking, smoke inhalation injury tobacco.

Título curto: Transporte Mucociliar em Fumantes

Short title: Mucociliary Clearance in Smokers

INTRODUÇÃO

O tabagismo é a principal causa de morte evitável no mundo. Cerca de seis milhões de pessoas morrem por doenças relacionadas ao tabaco e de acordo com a Organização Mundial de Saúde estima-se que em 2030 esse número aumente para oito milhões.¹

A exposição ao fumo do tabaco é um fator de risco significativo para o desenvolvimento de doenças respiratórias, como o câncer de pulmão e a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC).² Estudos indicam que este risco está relacionado ao consumo de cigarros e que fumantes intensos apresentam maior risco relativo de desenvolverem câncer de pulmão que fumantes leves e a proporção de tabagistas que irá desenvolver DPOC é 10% maior naqueles que consomem 40 cigarros por dia em relação aos que consomem 20 cigarros por dia.³⁻

10

A fumaça do cigarro é uma mistura complexa de milhares de compostos químicos, dos quais mais de duzentos são altamente tóxicos.¹¹ Altos níveis de oxidantes e espécies reativas de oxigênio (ROS) têm sido detectados na fumaça do cigarro de via principal (mainstream), inalada por fumantes ativos e de via secundária (sidestream), inalada por fumantes passivos, que entregam uma grande carga oxidante para a superfície epitelial do pulmão.¹²

O monóxido de carbono (CO) é o principal gás tóxico presente na fumaça do cigarro e é reconhecido como um subproduto da degradação enzimática do heme pela heme oxigenase (HO), enzimas que catalisam este processo.^{13,14}

A produção endógena de CO é um processo ligado ao estresse oxidativo^{15,16} e a HO responde a condições em que este se encontra aumentado. Desta forma, o sistema HO/CO é parte da defesa integrada contra células de estresse, como choque térmico, metais pesados, lipopolissacarídeo e ROS.¹⁷⁻²²

Estudos têm investigado o sistema HO/CO por meio da mensuração do CO exalado (Coex) em diversas condições patológicas pulmonares, tais como asma e doença pulmonar obstrutiva crônica.²³

As substâncias presentes na fumaça do cigarro alteram o trato respiratório, afetando diretamente o transporte mucociliar.²⁴ Este é considerado o principal mecanismo de defesa do trato respiratório e seu bom funcionamento depende da frequência de batimento ciliar, das propriedades físicas e da transportabilidade do muco respiratório além da interação entre os cílios e a camada de muco.²⁵

A fumaça do cigarro promove alterações na frequência de batimento ciliar, estudos *in vitro* mostram que a cotinina, um metabólito do cigarro, reduz a frequência de batimento ciliar e que a exposição de células epiteliais à fase particulada da fumaça do cigarro reduz a resposta de aumento da frequência de batimento ciliar frente a um estímulo.^{26,27} Estudos *in vivo* também demonstram que a exposição crônica ao cigarro também altera o transporte mucociliar em humanos.²⁸⁻³⁰

Estas alterações podem ser ocasionadas por alterações morfológicas do epitélio respiratório, decorrentes da exposição crônica ao cigarro. Estudos mostram que fumantes apresentam aumento do epitélio desnudo.³¹

Há um remodelamento epitelial com aumento do número de células caliciformes e hipertrofia das células mucosas, as quais propiciam um aumento considerável na produção de muco e geram prejuízo ao transporte mucociliar.³²

A exposição à fumaça do cigarro é capaz de alterar a eficácia do transporte mucociliar.³³ Estudos *in vitro* mostraram que a frequência de batimento ciliar estava reduzida em consequência à exposição à fumaça do cigarro.^{27,34} Leopold *et al.* mostraram que o comprimento

dos cílios de fumantes estava reduzido em relação aos não fumantes.³⁵ Outros autores observaram que a velocidade de transporte do muco de não-fumantes é mais rápida que de ex-fumantes.³⁶ Stanley *et al.* não encontraram diferença na frequência do batimento ciliar entre fumantes e não-fumantes e relataram frequência de batimento ciliar normal. Porém, os autores observaram que em fumantes regulares o transporte mucociliar é mais lento, e sugeriram que a exposição da mucosa nasal a fumaça do cigarro varia consideradamente entre os fumantes.³⁷

Assim, pode-se observar que diversos estudos demonstram que fumantes apresentam alterações capazes de influenciar negativamente o transporte mucociliar.

No entanto, a associação entre o comportamento do transporte mucociliar em resposta a diferentes níveis de consumo tabagístico não foram profundamente investigadas. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o transporte mucociliar de fumantes em diferentes intensidades de exposição.

MÉTODOS

Amostra

Foram avaliados 117 indivíduos divididos em 93 fumantes e 24 não fumantes (Tabela 1). Os indivíduos fumantes foram classificados em fumantes leves (até 10 cigarros por dia), moderados (de 11 a 20 cigarros por dia) e intensos (a partir de 21 cigarros por dia).³⁷ Os indivíduos foram avaliados no Centro de Estudos e Atendimentos em Fisioterapia e Reabilitação (CEAFiR), os fumantes foram avaliados antes de iniciarem o tratamento no Programa de Orientação e Conscientização Anti-Tabagismo da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista – FCT/UNESP de Presidente Prudente.

Os participantes foram previamente comunicados sobre os objetivos e procedimentos do estudo e, após sua autorização, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido de acordo com a Declaração de Helsinki da Associação Médica Mundial passaram a fazer parte efetiva da pesquisa.

O estudo contou com a aprovação do Comitê de ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências e Tecnologia – FCT/UNESP de Presidente Prudente (parecer nº 12/2010).

Indivíduos com fibrose cística, bronquiectasias, síndrome dos cílios imóveis, história de cirurgia nasal ou trauma, processos inflamatórios das vias aéreas superiores e doenças tabaco relacionadas, atestadas clinicamente ou por espirometria, foram excluídos deste estudo.

Desenho do estudo e protocolo

Todos os indivíduos incluídos no estudo foram avaliados em dois dias de experimento. No primeiro realizaram uma entrevista para obtenção dos dados pessoais, histórico tabagístico (tempo de tabagismo, número de cigarros/dia, anos maço) e nível de dependência de acordo com questionário de Fagerstrom seguido da avaliação da função pulmonar (espirometria).^{38,39} No segundo dia foram avaliados os níveis de monóxido de carbono no ar exalado (COex), carboxihemoglobina (COHb) e transporte mucociliar por meio do tempo de trânsito de sacarina (TTS).

As avaliações foram realizadas no período da manhã, entre 07:30 e 09:30 horas, em ambiente com temperatura de 25°C e umidade relativa do ar entre 50 e 60%.

Função pulmonar

A espirometria foi realizada de acordo com as diretrizes da American Thoracic Society, por meio de um espiromômetro portátil (Spirobank-MIR, MIR, Itália, versão 3.6).³⁹ Foram utilizados valores de referência específicos para a população brasileira.⁴⁰

Monóxido de carbono no ar exalado e carboxihemoglobina

Os níveis de COex e COHb foram mensurados por meio de um monoxímetro (Micro CO Meter, Cardinal Health, U.K).⁴¹ Os indivíduos foram instruídos a realizar uma inspiração profunda, permanecer em apneia por 20 segundos, acoplar o bucal do aparelho em sua boca e em seguida realizar uma expiração lenta e suave.⁴²

Avaliação do transporte mucociliar por meio do TTS

Para a mensuração da velocidade do transporte mucociliar nasal foi utilizado o TTS, como descrito previamente por Salah *et al.*⁴³ Os indivíduos foram posicionados sentados, com a cabeça estendida a 10° e 2,5 mg de sacarina sódica granulada foram introduzidos por meio de um canudo plástico, sob controle visual, a 2 cm para dentro da narina direita. A partir deste momento, o cronômetro (marca Track.Pro) foi acionado e registrou o tempo despendido para o relato da sensação adocicada na boca. Os indivíduos foram orientados a manter a posição inicial e orientados a não falar, tossir, espirrar, coçar ou assoar o nariz, além de serem instruídos a engolir poucas vezes por minuto até que sentissem um gosto em sua boca. Se não ocorresse a percepção do sabor dentro de 60 minutos o teste seria interrompido e seria avaliada a capacidade do indivíduo em perceber o gosto da sacarina, colocando-a em sua língua, e então o teste seria repetido em outro dia. Os indivíduos foram instruídos a não fumar, não fazer uso de medicamentos tais como anestésicos, analgésicos, antidepressivos, de bebidas alcoólicas, e de substâncias à base de cafeína no mínimo 12 horas antes da mensuração do TTS.

Análise estatística

Para análise dos dados foi utilizado o programa Graphpad Prism 3.0 (Inc., San Diego CA, USA). A normalidade na distribuição dos dados foi avaliada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. A descrição dos resultados foi realizada como média (desvio padrão) e

como mediana (intervalo interquartilico 25-75). Para comparação das variáveis idade, valores espirométricos e tempo de fumo, entre os grupos avaliados foi utilizado teste de one-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey para variáveis IMC, questionário de Fagerstrom, COex, COHb, índice anos/maço, cigarros/dia e TTS foi utilizado teste de Kruskal-Wallis seguido de pós teste de Dunn de acordo com a normalidade dos dados. As correlações foram avaliadas por meio do coeficiente de Spearman, de acordo com a normalidade dos dados. Significância estatística foi determinada como $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram incluídos neste estudo 99 fumantes, divididos de acordo com o consumo de cigarros por dia, em fumantes leves (14 indivíduos), fumantes moderados (34 indivíduos) e fumantes intensos (27 indivíduos). Também foram incluídos 24 indivíduos não fumantes (grupo controle). Foram excluídos 18 indivíduos após a realização do teste de função pulmonar por apresentarem obstrução de vias aéreas.

Não foi observada diferença significativa nas características demográficas e nos valores espirométricos entre os grupos (Tabela 1). Em relação ao histórico tabagístico não houve diferença estatisticamente significativa no tempo de fumo dos fumantes leves (34 ± 13 anos; média \pm desvio padrão), moderados (30 ± 8 anos) e intensos (34 ± 5 anos; $P=0,23$); em relação ao índice anos/maço fumantes intensos apresentaram maior anos/maço (50 [40-69]; mediana [intervalo interquartilico 25-75]) que fumantes moderados (24 [19-35]) e leves (18 [10-23]; $P < 0,0001$) e, quanto ao consumo diário de cigarros, fumantes intensos apresentaram maior consumo diário de cigarros (40 [30-41]) que fumantes moderados (20 [15-20]) e leves (10 [9-10]; $P < 0,0001$).

enquanto que fumantes moderados apresentaram maior cigarros/dia que fumantes leves ($P<0,0001$), (Tabela 2).

Não foi observada diferença significativa no nível de dependência a nicotina, de acordo com o questionário de Fagerstrom, entre os fumantes leves (3 [3-6]), moderados (5 [3-6]) e graves (6 [3-7]), (Tabela 2).

Fumantes intensos e moderados apresentaram maior TTS que fumantes leves e não fumantes (12 [11-22], 15 [10-19], 8 [7-14] e 8 [6-13] minutos, respectivamente; $P=0,0001$), assim como também apresentaram maiores valores de COex (13 [7-19], 10 [8-17], 6 [2-9] e 2 [1-3] ppm, respectivamente; $P<0,0001$) e COHb (2 [1-3], 1,6 [1,3-2,8], 1 [0,7-1,4] e 0,5 [0,3-0,6] respectivamente; $P<0,0001$), (Figura 1).

Foi observada correlação positiva entre os valores de TTS e COex ($r=0,4$; $P<0,0001$), entre os valores de TTS e cigarros/dia ($r=0,3$; $P=0,02$) e entre os valores de COex e cigarros/dia ($r=0,3$; $P<0,01$), (Figura 2).

DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que fumantes moderados e intensos com tempo de fumo semelhante apresentam transporte mucociliar prejudicado, além de maiores níveis de COex e COHb em relação à fumantes leves e não fumantes.

O tempo de transporte mucociliar depende da quantidade e qualidade da secreção brônquica, da sincronia e frequência do batimento ciliar e da estrutura do epitélio respiratório.⁴⁴

A fumaça de cigarro está associada a profundas alterações nos mecanismos de produção de muco. A exposição crônica a essa fumaça provoca alterações metaplásicas da

mucosa respiratória com aumento no número e tamanho de células caliciformes com consequente aumento da quantidade de secreção nas vias aéreas.^{45,46}

Estudos *in vitro* demonstram que a fumaça do cigarro reduz a frequência de batimento ciliar e prejudica a sincronia deste batimento.^{27,47,48} Agius *et al.* observaram que a frequência de batimento ciliar foi significativamente menor em pacientes expostos a fumaça do cigarro que nos não expostos.⁴⁹ O fumo do cigarro promove lesões nas células epiteliais que revestem o trato respiratório. Estudos demonstram que o cigarro induz apoptose das células ciliares respiratórias e prejudica a regeneração epitelial.^{50,51} Estudos experimentais demonstram que a exposição crônica e intermitente à fumaça de cigarro promove alterações morfológicas no epitélio de todo o trato respiratório.⁴⁷

Em estudos com humanos foram observados aumento de hiperplasia, células atípicas e anormalidades estruturais nos cílios.^{48,52} Tamashiro *et al.*, por meio de culturas de epitélio respiratório obtidas de septo nasal de camundongos, demonstraram que a exposição do epitélio respiratório tanto à fase particulada como à fase gasosa da fumaça de cigarro provoca redução significativa na porcentagem de desenvolvimento de cílios, assim como redução em seu tamanho.⁵³ Leopold *et al.* observaram que a 50% dos indivíduos fumantes tiveram cílios 15% mais curtos que indivíduos não fumantes.³⁵

Assim, pode-se observar que está bem definido na literatura que a fumaça de cigarro promove alterações que prejudicam a eficácia do transporte mucociliar. Neste estudo, fumantes moderados e intensos apresentaram prejuízo semelhante no transporte mucociliar, assim como também apresentaram valores semelhantes de COex e COHb. Em contrapartida, fumantes leves apresentaram transporte mucociliar semelhante ao de não fumantes, o mesmo foi observado nos níveis de COex e COHb.

Tais achados podem ser explicados por estudos prévios que observaram altas concentrações de radicais livres encontrados na fase gasosa do cigarro, que resulta em aumento do estresse oxidativo.^{53, 54}

O CO é produzido endogenamente, principalmente em situações de estresse oxidativo e inflamação. Um estudo demonstrou que indivíduos com asma e DPOC apresentaram valores de corte superiores de COex (10-11 ppm) para a classificação em fumantes e não fumantes comparados à indivíduos sem patologia pulmonar, para os quais o valor de corte é de 6 ppm. Este aumento nos níveis de COex está relacionado, principalmente, a exacerbação de algumas patologias respiratórias.⁵⁶⁻⁵⁸

Estudos têm relatado que COex está presente em doenças inflamatórias pulmonares, como asma, discinesia ciliar primária e bronquiectasias, demonstrando que os níveis de COex podem refletir a indução da HO-1, e do estresse oxidativo e que o clearance mucociliar é prejudicado pelo estresse oxidativo induzido pela exposição a fumaça do cigarro.⁵⁹⁻⁶¹ Desta forma, uma hipótese para um pior clearance mucociliar nasal nos fumantes com maior COex, é o maior nível de estresse oxidativo.

Adicionalmente, houve correlação positiva entre os valores de COex e cigarros/dia, mostrando que indivíduos com maior COex, também apresentam maior consumo diário de cigarros. Tal achado corrobora com o de Santos *et al.* que também observaram correlação positiva entre os valores de COex e número de cigarros consumidos por dia.⁵⁷

Também foi observada correlação positiva entre os valores de TTS e cigarros/dia e entre os valores de TTS e COex, demonstrando que indivíduos com maior TTS, apresentam também maior consumo diário de cigarros e maiores níveis de COex. Estes achados corroboram

com os de Proença *et al*, que também apresentaram correlação positiva entre o TTS e o número de cigarros consumidos por dia.⁶²

Assim, diante do exposto, pode-se concluir que o fumo prejudica o transporte mucociliar e que este prejuízo é mais evidente em fumantes com consumo diário moderado e intenso de cigarros, mostrando que os prejuízos causados pelo tabagismo no transporte mucociliar são influenciados pela intensidade de exposição ao tabaco.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelas seguintes agências científicas: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Programa Institucional da Pró-Reitoria de Extensão-PROEX /UNESP.

REFERÊNCIAS

1. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Medicine*. 2006; **3**(11): 2011-30.
2. de Marco R, Accordini S, Marcon A, *et al.* Risk Factors for Chronic Obstructive Pulmonary Disease in a European Cohort of Young Adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; **183**: 891-7.
3. US Department of Health, Education, and Welfare. Smoking and Health. A Report of the Surgeon General. Pub No. USDHEW (PHS) 79-5006. Washington, DC: Govt Printing Office, 1979.
4. US Department of Health and Human Services. Reducing the Health Consequences of Smoking: 25 Years of Progress. A Report of the Surgeon General. Pub. No. USDHHS (CDC) 89-8411. Washington, DC: Govt Printing Office, 1989.
5. US Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Smoking: Cardiovascular Disease. A Report of the Surgeon General. Pub No. USDHHS (PHS) 84-50204. Washington, DC: Govt Printing Office, 1983.
6. US Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Smoking: Cancer. A Report of the Surgeon General. Pub No. USDHHS (PHS) 82-50179. Washington, DC: Govt Printing Office, 1982.
7. Doll R, Peto R: Mortality in relation to smoking: 20 years observations on male British doctors. *Br. Med. J.* 1976; **2**: 1525-36.
8. Lubin JH, Blot WJ, Berrino F, *et al.* Patterns of lung cancer risk according to type of cigarette smoked. *Int. J. Cancer.* 1984; **33**: 569-76.
9. Rogot E, Murray JL. Smoking and causes of death among US veterans: 16 years of observation. *Public Health Rep.* 1980; **95**: 213-22.

10. Martinet Y, Bohadana A. *O Tabagismo: Da prevenção à abstinência*. Climepsi Editores, Lisboa, 2003.
11. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ. Health Perspect.* 1985; **64**: 111-26.
12. Brunnemann KD, Hoffmann D. Analytical studies on tobacco-specific nitrosamines in tobacco and tobacco smoke. *Crit. Rev. Toxicol.* 1991; **21**(4): 235-40.
13. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. Microsomal heme oxygenase. Characterization of the enzyme. *J Biol Chem.* 1969; **244**: 6388-94.
14. Zuckerbraun BS, et al. Carbon monoxide protects against liver failure through nitric oxide-induced heme oxygenase 1. *J Exp Med.* 2003; **198**: 1707-16.
15. Rodgers PA, Vreman HJ, Dennery PA, et al. Sources of carbon monoxide (CO) in biological systems and applications of CO detection technologies. *Semin. Perinatol.* 1994; **18**(1): 2-10.
16. Vreman HJ, Wong RJ, Sanesi CA, et al. Simultaneous production of carbon monoxide and thiobarbituric acid reactive substances in rat tissue preparations by an iron-ascorbate system. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1998; **76**(12): 1057-65.
17. Zuckerbraun BS, et al. Carbon monoxide protects against liver failure through nitric oxide-induced heme oxygenase 1. *J Exp Med.* 2003; **198**: 1707-16.
18. Calabrese V, Stella AM, Butterfield DA, Scapagnini G. Redox regulation in neurodegeneration and longevity: role of the heme oxygenase and HSP70 systems in brain stress tolerance. *Antioxid Redox Signal.* 2004; **6**: 895-913.
19. Siow RC, Sato H, Mann GE. Heme oxygenase-carbon monoxide signalling pathway in atherosclerosis: anti-atherogenic actions of bilirubin and carbon monoxide? *Cardiovasc Res.* 1999; **41**: 385-94.

20. Caudill TK, Resta TC, Kanagy NL, Walker BR. Role of endothelial carbon monoxide in attenuated vasoreactivity following chronic hypoxia. *Am J Physiol.* 1998; **275**: 1025–30.
21. Fujita T, et al. Paradoxical rescue from ischemic lung injury by inhaled carbon monoxide driven by derepression of fibrinolysis. *Nat Med.* 2001; **7**: 598–604.
22. Otterbein LE. Carbon monoxide: innovative anti-inflammatory properties of an age-old gas molecule. *Antioxid Redox Signal.* 2002; **4**: 309–19.
23. Horvath I, MacNee W, Kelly FJ, *et al.* Haemoxygenase-1 induction and exhaled markers of oxidative stress in lung diseases. *Eur Respir J.* 2001, **18**: 420-30.
24. Dalhamm T. In vivo and in vitro ciliotoxic effects of tobacco smoke. *Arch Environ Health.* 1970; **21**: 633-4.
25. Trindade SHK, Mello Junior JF, Mion OG, *et al.* Methods for Studying Mucociliary Transport. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2007; **73**(5): 704-12.
26. Agius AM, Wake M, Pahor AL, *et al.* Smoking and middle ear ciliary beat frequency in otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol.* 1995; **115**: 44-9.
27. Cohen NA, Zhang S, Sharp DB, *et al.* Cigarette smoke condensate inhibits transepithelial chloride transport and ciliary beat frequency. *Laryngoscope* 2009; **119**(11): 2269-74.
28. Stanley PJ, Wilson R, Greenstone MA, MacWilliam L, Cole PJ. Effect of cigarette smoking on nasal mucociliary clearance and ciliary beat frequency. *Thorax.* 1986; **41**: 519-23.
29. Karaman M, Tek A. Deleterious effect of smoking and nasal septal deviation on mucociliary clearance and improvement after septoplasty. *Am J Rhinol Allergy.* 2009; **23**(1): 2-7.
30. Ramos EMC, Toledo AC, Xavier RF. Reversibility of impaired nasal mucociliary clearance in smokers following a smoking cessation programme. *Respirology.* 2011; **16**: 849–55.

31. Wanner A, Salathe M, O’Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; **154**: 1868-902.
32. Dye JA, Adler KB. Occasional review Effects of cigarette smoke on epithelial cells of the respiratory tract. *Thorax.* 1994; **49**(8): 825-34.
33. Elliott MK, Sisson JH, Wyatt TA. Effects of cigarette smoke and alcohol on ciliated tracheal epithelium and inflammatory cell recruitment. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2007; **36**(4): 452–9.
34. Knoll M, Shaoulian R, Magers T, *et al.* Ciliary beat frequency of hamster oviducts is decreased in vitro by exposure to solutions of mainstream and sidestream cigarette smoke. *Biol. Reprod.* 1995; **53**(1):29-37.
35. Leopold PL, O’Mahony MJ, Lian XL, *et al.* Smoking Is Associated with Shortened Airway Cilia. *PLoS One.* 2009; **4**(12): e8157.
36. Mortensen J, Lange P, Jorgen N, *et al.* Lung mucociliary clearance. *Eur. J. Nucl. Med.* 1994; **21**: 953-61
37. Nagelmann A, Tonnov A, Toivo L, *et al.* Lung dysfunction of chronic smokers with no signs of COPD. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Diseases.* 2008; **8**(3): 189-95.
38. Fagerström KO, Heatherton TF, Kozlowski LT. Nicotine addiction and its assessment. *Ear Nose Throat J.* 1990; **69**(11): 763-5.
39. American Thoracic Society. Standardization of spirometry: 1994 update. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; **152**(3): 1107-36.
40. Duarte AA, Pereira CAC, Rodrigues SC. Validation of new brazilian predicted values for forced spirometry in caucasians and comparison with predicted values obtained using other reference equations. *J. Bras. Pneumol.* 2007; **33**(5): 527-35.

41. Jarvis M, Belcher M, Vessey C, *et al.* Low cost carbon monoxide monitors in smoking assessment. *Thorax*. 1986; **41**(11): 886-7.
42. Javirs MA, Hatch JP, Lamb RJ. Cut-off levels for breath carbon monoxide as a marker for cigarette smoking. *Addiction*. 2005; **100**(2): 159-67.
43. Salah B, Dinh Xuan AT, Fouilladieu JL, *et al.* Nasal mucociliary transport in healthy subjects is slower when breathing dry air. *Eur. Respir. J.* 1988; **1**(9): 852-5.
44. Passàli D, Ferri R, Becchini G, *et al.* Alterations of nasal mucociliary transport in patients with hypertrophy of the inferior turbinates, deviations of the nasal septum and chronic sinusitis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 1999; **256**(7): 335-7.
45. Mullen JBM, Wright JL, Wiggs BR, *et al.* Structure of central airways in current smokers and ex-smokers with and without mucus hypersecretion: relationship to lung function. *Thorax*. 1987; **42**: 843-8.
46. Wright JL, Lawson LM, Kennedy S, *et al.* The detection of small airways disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1984; **129**: 989-94.
47. Gaworski CL, Dozier MM, Eldridge SR, *et al.* Cigarette smoke vapor-phase effects in the rat upper respiratory tract. *Inhalation Toxicol.* 1998; **10**: 857-73.
48. Auerback O, Stout AP, Hammond EC, *et al.* Changes in bronchial epithelium in relation to cigarette smoking and in relation to lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 1961; **265**(6): 253-67.
49. Agius AM, Smallman LA, Pahor AL. Age, smoking and nasal ciliary beat frequency. *Clin. Otolaryngol. Allied. Sci.* 1998; **23**: 227-30.
50. Luppi F, Aarbiou J, Van Wetering S, *et al.* Effects of cigarette smoke condensate on proliferation and wound closure of bronchial epithelial cells in vitro: role of glutathione. *Resp. Res.*

51. Van Winkle LS, Evans MJ, Brown CD, *et al.* Prior exposure to aged and diluted sidestream cigarette smoke impairs bronchiolar injury and repair. *Toxicol. Sci.* 2001; **60**(1):152-64.
52. Verra F, Escudier E, Lebargy F, *et al.* Ciliary abnormalities in bronchial epithelium of smokers, ex-smokers, and nonsmokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; **151**: 630-4.
53. Tamashiro E, Xiong G, Anselmo-Lima WT, *et al.* Cigarette smoke exposure impairs epithelial respiratory ciliogenesis. *Am. J. Rhinol. Allergy.* 2009; **23**(2): 117-22.
54. Slebos DJ, Ryter SW, Choi AM. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide in pulmonary medicine. *Respir. Res.* 2003 doi 10.1186/1465-9921-4-7
55. Otterbein L, Sylvester SL, Choi AMK. Hemoglobin provides protection against lethal endotoxemia in rats: the role of heme oxygenase-1. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1995; **13**(5): 595-601.
56. Sato S, Nishimura K, Koyama H, Tsukino M, Oga T, *et al.* (2003) Optimal cutoff level of breath carbon monoxide for assessing smoking status in patients with asthma and COPD. *Chest.* **124**: 1749–1754.
57. Santos UP, Gannam S, Abe JM, *et al.* Emprego da determinação de monóxido de carbono no ar exalado para a detecção de consumo de tabaco. *J. Pneumol.* 2001; **27**(5): 231-6.
58. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001. **163**: 1693–1722
59. Zayasu K, Serikawa K, Okinaga S, *et al.* Increased Carbon Monoxide in Exhaled Air of Asthmatic Patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; **156**(4 Pt 1): 1140-3.
60. Horvath I, Loukides S, Wodehouse T, *et al.* Comparison of exhaled and nasal nitric oxide and exhaled carbon monoxide levels in bronchiectatic patients with and without primary ciliary dyskinesia. *Thorax* 2004; **58**(1): 68-72.

61. Cosio MG, Hale KA, Niewoehner DE. Morphologic and morphometric effects of prolonged cigarette smoking on the small airways. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1980; **122**(2): 265-21.
62. Proença M, Xavier R, Ramos D, *et al.* Immediate and short term effects of smoking on nasal mucociliary clearance in smokers. *Rev. Port. Pneumol.* 2011; **17**(4): 172-6.

TABELAS

Tabela 1. Características demográficas e espirométricas dos 99 indivíduos incluídos neste estudo.

Características	Não fumantes (n = 24)	Fumantes leves (n = 14)	Fumantes moderados (n= 34)	Fumantes intensos (n = 27)
Demográficas				
Gênero masculino (%)	30	38	41	48
Idade, anos ; média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	50 ± 11 47 [40-60]	51 ± 15 55 [42-64]	49 ± 7 50 [44-55]	46 ± 8 48 [41-52]
IMC, Kg/m ² ; média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	26 ± 4 24 [23-30]	25 ± 3 24 [22-27]	26 ± 4 27 [23-29]	26 ± 5 26 [24-28]
Valores espirométricos				
VEF ₁ /CVF (%); média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	82 ± 2 82 [80-83]	87 ± 2 87 [84-90]	81 ± 6 82 [78-85]	82 ± 6 81 [77-83]
CVF (%Pred.); média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	93 ± 11 93 [88-96]	97 ± 11 96 [87-107]	96 ± 11 96 [87-106]	102 ± 15 103 [91-116]
VEF ₁ (%Pred.); média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	97 ± 13 96 [85-104]	101 ± 102 101 [89-112]	93 ± 11 92 [85-105]	94 ± 14 95 [82-109]

Dados apresentados em média±desvio padrão e em mediana [intervalo interquartilico 25-75]. IMC= Índice de massa corporal, VEF₁= Volume expiratório forçado em um Segundo, CVF= Capacidade vital forçada, L= litros, Pred= Predito.

Tabela 2. Histórico tabagístico e nível de dependência a nicotina de acordo com questionário de Fagerström dos 75 fumantes avaliados.

Características	Fumantes leves (n = 14)	Fumantes moderados (n = 34)	Fumantes intensos (n = 27)
Histórico tabagística			
Tempo de fumo; média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	32 ± 17 31 [18-48]	29 ± 9 30 [23-35]	32 ± 8 33 [27-38]
Anos maço; média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	17 ± 10 18 [10-23]	27 ± 11 24 [19-35]	59 ± 44* 50 [40-68]
Cigarros/dia; média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	9 ± 1 10 [9-10]	18 ± 3† 20 [15-20]	39 ± 11* 40 [30-41]
Nível de dependência a nicotina			
Questionário de Fagerstrom; média ± DP; Mediana [Percentil 25-75]	4 ± 2 3 [3-6]	5 ± 2 5 [3-6]	6 ± 3 6 [3-7]

Dados apresentados em média±desvio padrão e em mediana [intervalo interquartilico 25-75].

* $P < 0,0001$ versus fumantes moderados e graves.

† $P < 0,0001$ versus fumantes leves.

FIGURAS

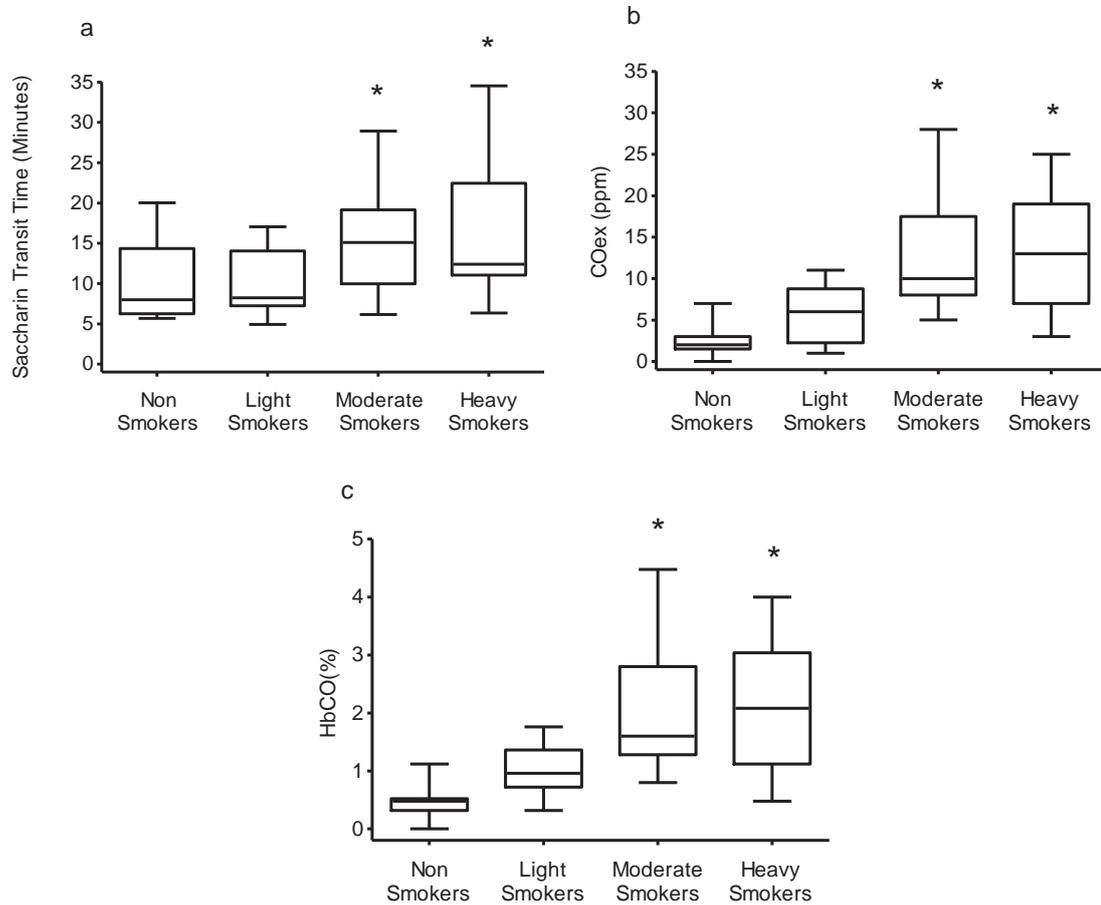


Figura 1. Valores do tempo de trânsito de sacarina (a), monóxido de carbono no ar exalado (b) e carboxihemoglobina (c) em não fumantes (n=24), fumantes leves (n=14), moderados (n=34) e graves (n=27). Dados apresentados em mediana e (intervalo interquartilico 25-75). * $P=0,0001$, * $P<0,0001$ e * $P<0,0001$ versus não fumantes e fumantes leves em (a), (b) e (c), respectivamente.

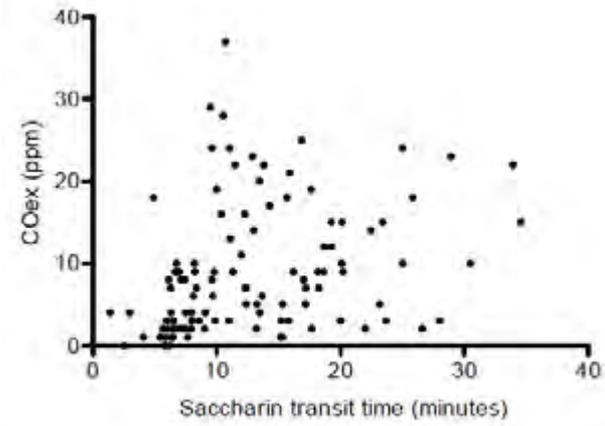


Figura 2. Correlação positiva entre os valores de TTS e COex ($r=0,4$; $P<0,0001$)

Artigo 2

**Reversibilidade do transporte mucociliar nasal prejudicado de fumantes acompanhados em
um programa de cessação do tabagismo**

**Reversibility of impaired nasal mucociliary clearance in smokers
following a smoking cessation programme**

Ercy Mara Cipulo Ramos,¹ Alessandra Choqueta de Toledo,¹ Rafaella Fagundes Xavier,¹
Luciana Cristina Fosco,¹ Rodolfo Paula Vieira,³ Dionei Ramos¹ e José Roberto Jardim²

1 – Departamento de Fisioterapia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Presidente Prudente,
São Paulo, Brasil

2 – Departamento de Pneumologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Escola de
Medicina de São Paulo, São Paulo, Brasil

3 – Departamento de Pneumologia do Hospital Universitário Friburgo, Friburgo, Alemanha

SUMMARY AT A GLANCE

Mucociliary clearance was measured in smokers enrolled in a Smoke Cessation Intervention Programme. Impairment of nasal mucociliary transport in smokers was reversed from the 15th Day after cessation of smoking, and these beneficial effects persisted for 6 months.

RESUMO

Justificativa e objetivo: A cessação do tabagismo (CT) é reconhecida por reduzir a mortalidade e morbidade relacionadas ao tabaco. O efeito da CT sobre o transporte mucociliar (TM) nasal em fumantes foi avaliado durante um período de 180 dias. **Métodos:** Trinta e três fumantes participantes de um programa de intervenção para a CT foram avaliados depois de terem parado de fumar. Foram avaliados o histórico tabagístico, teste de Fagerström, função pulmonar, monóxido de carbono exalado (COex), carboxihemoglobina (COHb) e TM nasal avaliado pelo tempo de trânsito sacarina (TTS). Todos os parâmetros foram mensurados no início do estudo em 33 não fumantes pareados. **Resultados:** Os fumantes ($49,6 \pm 12$ anos, $44,6 \pm 25$ anos/maço; média \pm desvio padrão) estavam matriculados em um programa de intervenção para a CT e 27% (n = 9), abstiveram-se por 180 dias, 30% (n = 11) por 120 dias, 49,5% (n = 15) por 90 ou 60 dias, 62,7% (n = 19) por 30 dias e 75,9% (n = 23) por 15 dias. Um grau moderado de dependência a nicotina, níveis de ensino superior e menor uso de bupropiona foram associados com a capacidade de parar de fumar ($P < 0,05$). O TTS foi prolongado em fumantes comparados aos não-fumantes ($P = 0,002$) e disfunção do TM esteve presente no momento inicial, tanto em fumantes que se abstiveram, como naqueles que não se abstiveram por 180 dias. COex e COHb também foram significativamente aumentados em fumantes em comparação com os não-fumantes. TTS diminuiu para valores dentro da faixa de normalidade após 15 dias de CT ($P > 0,01$), e permaneceu nessa faixa até o final do período de estudo. Do mesmo modo, os valores de COex após o sétimo de CT. **Conclusões:** Um programa para a CT contribuiu para melhoria no TM em fumantes após 15 dias de cessação do tabagismo e estes efeitos benéficos persistiram por 180 dias.

Palavras-chave: epitélio de vias aéreas, cessação do tabagismo, saúde pública, tabaco, transporte mucociliar.

ABSTRACT

Background and objective: Smoking cessation (SC) is recognized as reducing tobacco-associated mortality and morbidity. The effect of SC on nasal mucociliary clearance (MC) in smokers was evaluated during a 180-day period. **Methods:** Thirty-three current smokers enrolled in a SC intervention programme were evaluated after they had stopped smoking. Smoking history, Fagerström's test, lung function, exhaled carbon monoxide (exCO), carboxyhaemoglobin (COHb) and nasal MC as assessed by the saccharin transit time (STT) test were evaluated. All parameters were also measured at baseline in 33 matched non-smokers. **Results:** Smokers (mean age 49.6 ± 12 years, mean pack-year index 44.6 ± 25) were enrolled in a SC intervention and 27% (n = 9) abstained for 180 days, 30% (n = 11) for 120 days, 49.5% (n = 15) for 90 days or 60 days, 62.7% (n = 19) for 30 days and 75.9% (n = 23) for 15 days. A moderate degree of nicotine dependence, higher education levels and less use of bupropion were associated with the capacity to stop smoking ($P < 0.05$). The STT was prolonged in smokers compared with non-smokers ($P = 0.002$) and dysfunction of MC was present at baseline both in smokers who had abstained and those who had not abstained for 180 days. exCO and COHb were also significantly increased in smokers compared with non-smokers. STT values decreased to within the normal range on day 15 after SC ($P < 0.01$), and remained in the normal range until the end of the study period. Similarly, exCO values were reduced from the seventh day after SC. **Conclusions:** A SC programme contributed to improvement in MC among smokers from the 15th day after cessation of smoking, and these beneficial effects persisted for 180 days.

Key words: airway epithelium, mucociliary transport, public health, smoking cessation, tobacco.

Título curto: Transporte Mucociliar em Fumantes

Short title: Mucociliary Clearance in Smokers

INTRODUÇÃO

O tabagismo é a principal causa de morte evitável no mundo.¹ Atualmente, cerca de seis milhões de pessoas morrem a cada ano por doenças tabaco relacionadas, e de acordo com a Organização Mundial da Saúde, o número de mortes tende a aumentar para mais de oito milhões ao ano em 2030.¹ A exposição ao tabaco é um fator de risco significativo para o desenvolvimento de doenças respiratórias, incluindo a DPOC, e uma série de outras doenças. Além disso, o tabagismo está associado a exacerbações nas doenças pulmonares.²⁻⁵ A fumaça do cigarro é uma mistura complexa de milhares de compostos químicos e tóxicos, dos quais mais de 200 são altamente tóxicos.⁶ Altos níveis de agentes oxidantes e espécies reativas de oxigênio foram detectados na fumaça de via principal (mainstream) e de via secundária (sidestream), o que resulta em sobrecarga oxidativa na superfície do epitélio pulmonar.⁷ A produção endógena de monóxido de carbono (CO) é geralmente associada ao estresse oxidativo.^{8,9}

A exposição à fumaça do cigarro prejudica, significativamente, o sistema de defesa do organismo, que depende do transporte mucociliar das vias aéreas superiores e inferiores. Este mecanismo de defesa fornece proteção efetiva contra microorganismos e partículas nocivas inaladas, pois transporta essas partículas em sentido unidirecional à orofaringe.¹⁰ O tempo de trânsito sacarina (TTS) é um método simples, barato, reprodutível e eficaz de avaliação da depuração mucociliar e tem sido amplamente utilizado.¹¹

Programas de cessação do tabagismo são considerados o método mais eficaz de reduzir a morbidade e a mortalidade por doenças tabaco-relacionadas. Na ausência de qualquer assistência, apenas 6% das tentativas de parar de fumar apresentam sucesso.^{12, 13} Os programas de cessação do tabagismo com 1 ano de acompanhamento aumentam a taxa de sucesso em aproximadamente 30%.¹⁴ A mensuração do COex tem sido bastante utilizada para comprovar a

abstinência ao tabaco nestes programas.¹⁵ A cessação do tabagismo está associado à melhora da função pulmonar e à redução dos sintomas respiratórios, da inflamação de vias aéreas e da disfunção endotelial.¹⁶ Apesar de esclarecidos os benefícios respiratórios da cessação do tabagismo, os efeitos específicos sobre o transporte mucociliar foram pouco investigados. A hipótese do nosso estudo é que o transporte mucociliar melhore nos fumantes abstinentes acompanhados em um programa de cessação do tabagismo. Para testar tal hipótese, o TTS foi mensurado em ex-fumantes, após 12 horas de cessação do tabagismo e durante 6 meses de acompanhamento.

MÉTODOS

Amostra

Participantes do “Programa de Orientação e Conscientização Anti-Tabagismo” da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista (FCT/UNESP) foram convidados a participar deste estudo. Os participantes foram informados sobre os objetivos e procedimentos do estudo e passaram a fazer parte efetiva da pesquisa após assinarem um termo de consentimento livre e esclarecido de acordo com a Declaração de Helsinki da Associação Médica Mundial. Durante o primeiro mês, os participantes foram avaliados semanalmente quanto a função pulmonar, mensurações de COex e transporte mucociliar nasal. Nos últimos cinco meses do estudo essas avaliações foram realizadas mensalmente. Foram avaliados dois grupos de indivíduos: 33 fumantes participantes do Programa de Orientação e Conscientização Anti-Tabagismo (grupo do programa de cessação) e 33 não fumantes (grupo controle). Indivíduos com fibrose cística, bronquiectasia, síndrome dos cílios imóveis, histórico de cirurgia ou trauma nasal,

inflamação de vias aéreas superiores ou doenças tabaco-relacionadas foram excluídos do estudo. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual Paulista.

Desenho do estudo e protocolo

Todos os indivíduos foram submetidos a uma entrevista inicial, a fim de obter dados pessoais e histórico tabagístico. O nível de dependência a nicotina de acordo com o questionário de Fagerström também foi avaliado nesta entrevista inicial.¹⁷ No grupo de cessação do tabagismo, a espirometria, as mensurações de COex, carboxihemoglobina (COHb) e transporte mucociliar nasal por meio do TTS foram realizadas inicialmente (12 horas após fumar o último cigarro) e repetidas após 7, 15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias da cessação do tabagismo. O grupo de não fumantes apresentou características demográficas semelhantes e também foi avaliado inicialmente.

Programa de cessação do tabagismo

No Brasil o programa de cessação do tabagismo foi originalmente desenvolvido pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA).¹⁸ Este programa é baseado no tratamento cognitivo-comportamental com ou sem o auxílio de terapia medicamentosa. O programa consistiu de 20 sessões oferecidos aos participantes durante o período de um ano. Nas primeiras duas semanas, quatro sessões de uma hora cada foram oferecidos a grupos de 10 a 15 fumantes. Esperava-se que os fumantes parassem de fumar após a quarta reunião. As sessões 4 a 10 foram oferecidas nas seis semanas seguintes, com temas para orientar a fase de cessação tabagística. As sessões de 11 a 20 foram oferecidas mensalmente, para manutenção da abstinência ao tabaco até que completasse um ano. O programa destina atenção especial aos benefícios da cessação do tabagismo, e ex-fumantes tiveram oportunidade de consultar e/ou receber suporte individual durante as reuniões sempre que necessário. A cessação do tabagismo foi considerada efetiva quando os participantes

permanecessem em abstinência por pelo menos seis meses.¹⁹ Foi definido ex-fumante somente aquele que se absteve ao tabaco por pelo menos um ano.

Mensuração da função pulmonar e do COex

A espirometria foi realizada de acordo com as diretrizes da American Thoracic Society,²⁰ por meio de um espirômetro portátil (versão Spirobank-MIR 3.6, Roma, Itália). Valores de referência foram específicos para a população brasileira.²¹ Os níveis de COex foram usados como marcador bioquímico para comprovar abstinência ao tabaco, e tal condição foi complementada pelos respectivos auto-relatos.¹⁵ Os níveis de COex e de carboxihemoglobina (%COHb) foram mensurados por meio de um monóxímetro (Micro Medical Ltda., Rochester, Kent, Reino Unido).²² Os participantes foram instruídos a permanecer em apneia por 20 segundos e em seguida acoplar o aparelho em sua boca e realizar uma expiração lenta a partir da capacidade vital funcional. Foram realizadas duas mensurações sucessivas e o maior valor foi adotado. Foi utilizado um ponto de corte de 8 ppm para os níveis de Coex, com alto grau de sensibilidade para verificar a abstinência ao tabaco.²³

Mensuração do transporte mucociliar por meio do TTS

A técnica de mensuração do transporte mucociliar nasal utilizada neste estudo já havia sido descrita previamente.¹¹ Esta técnica consiste na introdução de sacarina sódica granulada (2,5 mg) por meio de um canudo plástico, sob controle visual, a 2 cm para dentro da narina direita. O transporte mucociliar nasal foi avaliado por meio do tempo em que o indivíduo demorou para perceber o sabor da sacarina. Se não ocorresse a percepção do sabor dentro de 60 minutos o teste era interrompido e era avaliada a capacidade do indivíduo em perceber o sabor da sacarina, colocando-a em sua língua, e então o teste era repetido em outro dia. Os indivíduos foram instruídos a não respirar profundamente, falar, tossir, espirrar, coçar ou assoar o nariz

durante o teste. Os participantes também foram instruídos a não fazer uso de medicamentos tais como anestésicos, analgésicos barbitúricos, calmantes, antidepressivos, bebidas alcoólicas e de substâncias a base de cafeína no mínimo 12 horas antes da mensuração do TTS. Os testes foram realizados entre 8 e 9 da manhã com todos os participantes, para evitar variação na análise dos parâmetros.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Sigma Stat 10 Software (Systat Software, Inc., San Jose, CA, EUA). Para comparações de valores basais entre os não-fumantes e o grupo de cessação do tabagismo foram utilizados testes-t. Para comparar os determinantes comportamentais entre os indivíduos que desistiram e os que se mantiveram abstinentes por 180 dias, considerando as variáveis qualitativas, como gênero, escolaridade, teste de Fagerström, uso de medicamentos e o número de cigarros fumados por dia foi utilizado o teste de Goodman. As comparações dos valores de COex, COHb e do TTS em diferentes momentos durante o programa de cessação do tabagismo foram realizadas por meio da análise de variância para medidas repetidas, seguido pelo teste de Holm-Sidak para dados paramétricos, ou por análise de variância *on Ranks* seguido do teste de Dunn para dados não-paramétricos. O nível de significância utilizado foi de $P < 0,05$.

RESULTADOS

Foram incluídos neste estudo 33 indivíduos do grupo de cessação do tabagismo e 33 indivíduos saudáveis (grupo controle). A média de idade do grupo de cessação do tabagismo e do grupo controle foram 49 ± 12 anos e 52 ± 14 anos, respectivamente, e a média de IMC foram 26 ± 3 kg/m² e 26 ± 4 kg/m² respectivamente. Dados demográficos e espirométricos, bem como,

o histórico tabagístico e o nível de dependência a nicotina avaliado por meio do teste de Fagerström, para os indivíduos do grupo de cessação do tabagismo e grupo controle estão apresentados na Tabela 1. Não houve diferenças nas características demográficas entre os grupos. A função pulmonar basal foi significativamente menor em fumantes do que em não fumantes (VEF_1 $2,6 \pm 0,9$ L e $3,4 \pm 0,7$ L, respectivamente, $P < 0,001$).

Nove indivíduos no grupo de cessação do tabagismo (27%) abstiveram-se do cigarro durante 180 dias completos. Vinte e três dos 33 pacientes permaneceram sem fumar após duas semanas do início do programa, 19 permaneceram abstinentes após 30 dias, 15 após 90 dias, 11 após 120 dias e 9 após 180 dias. Indivíduos que se mantiveram abstinentes após 180 dias apresentaram características basais de dependência à nicotina de leve a moderada, alto nível de escolaridade e menor uso de bupropiona, em comparação aos pacientes que voltaram a fumar (Tabela 2).

Foram observados valores basais de TTS aumentados em fumantes comparados aos não fumantes ($P = 0,002$) (Fig. 1a). Os valores de COex e COHb também foram significativamente maiores em fumantes comparados aos não fumantes (Fig. 1b, c, respectivamente, $P < 0,001$).

A disfunção basal do transporte mucociliar foi semelhante em fumantes que que permaneceram abstinentes ou não durante os 180 dias (mediana TTS 4,4 min (intervalo interquartilico 4,1-5,0) e 7 min (2,2-8,4), respectivamente, $P = 0,34$). Houve uma redução significativa do TTS de fumantes que permaneceram sem fumar do 15º ao 180º dia, quando comparados aos valores basais (Fig. 2a, $P < 0,01$). Também houve uma redução do TTS no 7º dia em comparação com 60º dia ($P < 0,01$). Os níveis de Coex e COHb foram significativamente menores após 7 dias de cessação do tabagismo, em comparação com os valores basais (Fig. 2b, c,

P <0,001). Resultados semelhantes foram observados em 15, 30, 60, 90, 120 e 180 dias após a cessação do tabagismo, em comparação com valores basais.

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou pela primeira vez que a cessação do tabagismo, além de melhorar a função pulmonar e reduzir os níveis de COex e COHb, também melhora o clearance mucociliar nasal. O estudo também demonstrou que esses efeitos foram detectados após 15 dias de cessação do tabagismo e se mantiveram por até seis meses de acompanhamento.

Neste estudo, a taxa de sucesso, na cessação do tabagismo, ao final de 180 dias foi de 27%. Notavelmente, os indivíduos abstinentes foram aqueles considerados fumantes leves e com maior nível educacional, estes achados corroboram com os de estudos anteriores.^{14,24}

Além disso, de acordo com resultados anteriores, a dependência à nicotina está relacionada à cessação do tabagismo.²⁵ Não foi observado, em estudos prévios, correlação entre uma melhor aderência à um programa de 180 dias com uma maior utilização de terapia medicamentosa com bupropiona.²⁶

Estudos anteriores demonstram que o fumo do tabaco causa danos no epitélio respiratório e no principal mecanismo de defesa das vias aéreas, contribuindo assim, para o aumento da suscetibilidade a infecções respiratórias.^{4,5,27} O transporte mucociliar de fumantes está prejudicado em relação ao de não fumantes, e os resultados deste estudo corroboram com os descritos anteriormente.²⁸ Swan et al. mostraram efeitos consistentes da cessação do tabagismo sobre características citomorfológicas, tais como, menor número de células colunares, menor quantidade de muco e de metaplasia nas células epiteliais em fumantes que pararam de fumar comparados aos que não pararam.²⁹ No entanto, nenhum estudo prévio observou os efeitos da

cessação do tabagismo sobre o transporte mucociliar nasal. O presente estudo mostrou que a deficiência do transporte mucociliar nasal foi reversível em fumantes que participaram de um programa de cessação do tabagismo. Após a cessação do hábito de fumar, o transporte mucociliar nasal permaneceu dentro da faixa de normalidade após 15 dias e até seis meses de abstinência, sugerindo que houve uma melhora significativa da função epitelial.

O transporte mucociliar geralmente é prejudicado pelo estresse oxidativo induzido pela exposição à fumaça de cigarro.³⁰ O Estresse oxidativo induzido pelo fumo perturba a diferenciação celular, bem como a reparação e função das vias aéreas epiteliais.⁶ A fase gasosa da fumaça de cigarro contém altas concentrações de radicais livres (> 1015moléculas por puff),⁶ resultando em aumento do estresse oxidativo, com consequentes alterações no epitélio das vias aéreas.³¹

O CO é sintetizado em muitos tecidos do corpo como um produto da degradação pela enzima heme oxigenase (HO).³² Esta enzima está presente nos macrófagos alveolares³³, e é regulada pelo estresse oxidativo,^{30,34} óxido nítrico (NO)³⁵ e citocinas inflamatórias.³⁶ O CO também é produzido pelo metabolismo oxidativo de hidrocarbonetos exógenos, como o diclorometano, outros dialometanos e tetracloreto de carbono, e pela catalisação da enzima heme oxigenase foto-oxidação de compostos orgânicos, bem como a auto-oxidação de fenóis e da peroxidação lipídica da membrana celular.^{37,38} O CO que é difundido no sangue, é transportado pela hemoglobina e excretada pelos pulmões.

A produção endógena de CO é geralmente associada a do estresse oxidativo.^{8,9} A mensuração do COex tem se mostrado útil para a detecção do tabagismo no decorrer de programas de cessação. A mensuração das concentrações de CO no ar exalado pode ser útil durante o acompanhamento de fumantes no processo de cessação do tabagismo, bem como, na

monitorização dos níveis de COex. Esta monitorização dos níveis de COex pode motivar os indivíduos a pararem de fumar durante o programa de cessação do tabagismo.¹⁵ O presente estudo mostrou que após sete dias de cessação do tabagismo, os níveis de COex e os níveis de COHb retornam ao normal e permanecem nessa faixa durante os 6 meses de acompanhamento. Estudos relatam que os níveis de COex podem estar aumentados em até 7 ppm em doenças pulmonares, como asma, discinesia ciliar e bronquiectasias, demonstrando que os níveis de COex podem indicar um aumento de HO e estresse oxidativo.^{38,39} Uma hipótese para a melhora do transporte mucociliar nasal após a cessação do tabagismo é que a redução dos níveis de COex pode ter sido parcialmente mediada por uma diminuição do estresse oxidativo. Giuca et al. mostraram que a exposição a fumaça do cigarro pode alterar a desintoxicação dos peróxidos de hidrogênio por meio da redução da atividade das enzimas antioxidantes, a glutathione peroxidase, e este efeito pode ser reduzido após a cessação do tabagismo.⁴⁰ Os efeitos favoráveis do desequilíbrio oxidante-antioxidante após a cessação do tabagismo podem, possivelmente, aumentar a frequência do batimento ciliar e melhorar o transporte mucociliar.

Uma limitação do estudo foi a dificuldade na frequência continuada dos indivíduos nas reuniões e nas avaliações, que apesar de repetidos contatos telefônicos, abandonaram o estudo. A maioria dos indivíduos que voltaram a fumar passaram a consumir menos cigarros por dia que antes de sua tentativa de parar de fumar. Portanto, o estudo não foi capaz de mostrar se os níveis de COex, COHb e TTS nestes indivíduos retornaram aos níveis basais imediatamente depois que eles começaram a fumar novamente.

Em conclusão, este estudo mostrou que a cessação do tabagismo contribui para a melhoria do transporte mucociliar em fumantes após 15 dias de interrupção, e que esses efeitos são mantidos por seis meses de acompanhamento.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelas seguintes agências científicas: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Programa Institucional da Pró-Reitoria de Extensão-PROEX /UNESP.

REFERÊNCIAS

1. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006; **3**: e442.
2. de Marco R, Accordini S, Marcon A *et al.* Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; **183**: 891–7.
3. Houtmeyers E, Gosselink R, Gayan-Ramirez G *et al.* Regulation of mucociliary clearance in health and disease. *Eur. Respir. J.* 1999; **13**: 1177–88.
4. Foster WM, Langenback EG, Bergofsky EH. Disassociation in the mucociliary function of central and peripheral airways of asymptomatic smokers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1985; **132**: 633–9.
5. Almirall J, Gonzalez CA, Balanzo X *et al.* Proportion of community acquired pneumonia cases attributable to tobacco smoking. *Chest* 1999; **116**: 375–9.
6. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ. Health Perspect* 1985; **64**: 111–26.
7. Brunnemann KD, Hoffmann D. Analytical studies on tobaccospecific nitrosamines in tobacco and tobacco smoke. *Crit. Rev. Toxicol.* 1991; **21**: 235–40.
8. Rodgers PA, Vreman HJ, Dennery PA *et al.* Sources of carbon monoxide (CO) in biological systems and applications of CO detection technologies. *Semin. Perinatol.* 1994; **18**: 2–10.
9. Vreman HJ, Wong RJ, Sanesi CA *et al.* Simultaneous production of carbon monoxide and thiobarbituric acid reactive substances in rat tissue preparations by an iron-ascorbate system. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1998; **76**: 1057–65.
10. Sleight MA, Blake JR, Liron N. The propulsion of mucus by cilia. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988; **137**: 726–41.

11. Salah B, Dinh Xuan AT, Fouilladieu JL *et al.* Nasal mucociliary transport in healthy subjects is slower when breathing dry air. *Eur. Respir. J.* 1988; **1**: 852–5.
12. Godtfredsen NS, Holst C, Prescott E *et al.* Smoking reduction, smoking cessation, and mortality: a 16-year follow-up of 19 732 men and women from The Copenhagen Centre for Prospective Population Studies. *Am. J. Epidemiol.* 2002; **156**: 994–1001.
13. Zhu S, Melcer T, Sun J *et al.* Smoking cessation with and without assistance: a population-based analysis. *Am. J. Prev. Med.* 2000; **18**: 305–11.
14. Fernández E, Schiaffino A, Borrell C *et al.* Social class, education, and smoking cessation: long-term follow-up of patients treated at a smoking cessation unit. *Nicotine Tob. Res.* 2006; **8**: 29–36.
15. Middleton ET, Morice AH. Breath carbon monoxide as an indication of smoking habit. *Chest* 2000; **117**: 758–63.
16. Gratziou C. Respiratory, cardiovascular and other physiological consequences of smoking cessation. *Curr. Med. Res. Opin.* 2009; **25**: 535–45.
17. Fagerström KO, Heatherton TF, Kozlowski LT. Nicotine addiction and its assessment. *Ear Nose Throat J.* 1990; **69**: 763–5.
18. Brasil Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. *Abordagem e Tratamento do Fumante. Consenso 2001.* Rio de Janeiro, 2001.
19. Lee JS, Kim Y, Kim WN *et al.* Changes in smoking status among current male smokers and factors associated with smoking cessation success. *J. Prev. Med. Pub. Health* 2006; **39**: 339–45.
20. American Thoracic Society. Standardization of spirometry: 1994 update. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; **152**: 1107–36.

- 21 Duarte AA, Pereira CAC, Rodrigues SC. Validation of new Brazilian predicted values for forced spirometry in Caucasians and comparison with predicted values obtained using other reference equations. *J. Bras. Pneumol.* 2007; **33**: 527–35.
- 22 Jarvis M, Belcher M, Vessey C *et al.* Low cost carbon monoxide monitors in smoking assessment. *Thorax* 1986; **41**: 886–7.
- 23 Javors MA, Hatch JP, Lamb RJ. Cut-off levels for breath carbon monoxide as a marker for cigarette smoking. *Addiction* 2005; **100**: 159–67.
- 24 Grandes G, Cortada J, Arrazola A *et al.* Predictors of long-term outcome of a smoking cessation programme in primary care. *Br. J. Gen. Pract.* 2003; **53**: 101–7.
- 25 Zhou X, Nonnemaker J, Sherrill B *et al.* Attempts to quit smoking and relapse: factors associated with success or failure from the ATTEMPT cohort study. *Addict. Behav.* 2009; **34**: 365–73.
- 26 Dale LC, Glover ED, Sachs DP *et al.* Bupropion for smoking cessation: predictors of successful outcome. *Chest* 2001; **119**: 1357–64.
- 27 Ozlu T, Cay M, Akbulut A *et al.* The facilitating effect of cigarette smoke on the colonization of instilled bacteria into the tracheal lumen in rats and the improving influence of supplementary vitamin E on this process. *Respirology* 1999; **4**: 245–8.
- 28 Groenewegen KH, Wouters EF. Bacterial infections in patients requiring admission for an acute exacerbation of COPD: a 1-year prospective study. *Respir. Med.* 2003; **97**: 770–7.
- 29 Swan GE, Hodgkin JE, Roby T *et al.* Reversibility of airways injury over a 12-month period following smoking cessation. *Chest* 1992; **101**: 607–12.
- 30 Cosio MG, Hale KA, Niewoehner DE. Morphologic and morphometric effects of prolonged cigarette smoking on the small airways. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1980; **122**: 265–71.

- 31 Slebos DJ, Ryter SW, Choi AM. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide in pulmonary medicine. *Respir. Res.* 2003; **4**: 7.
- 32 Otterbein L, Sylvester SL, Choi AM. Hemoglobin provides protection against lethal endotoxemia in rats: the role of heme oxygenase-1. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1995; **13**: 595–601.
- 33 Fukushima T, Okinaga S, Sekizawa K *et al.* The role of carbon monoxide in lucigenin-dependent chemiluminescence of rat alveolar macrophages. *Eur. J. Pharmacol.* 1995; **289**: 103–7.
- 34 Camhi SL, Alam J, Otterbein L *et al.* Induction of heme oxygenase-1 gene expression by lipopolysaccharide is mediated by AP-1 activation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1995; **13**: 387–98.
- 35 Kim YM, Bergonia HA, Müller C *et al.* Loss and degradation of enzyme-bound heme induced by cellular nitric oxide synthesis. *J. Biol. Chem.* 1995; **270**: 5710–13.
- 36 Cantoni L, Rossi C, Rizzardini M *et al.* Interleukin-1 and tumour necrosis factor induce hepatic haem oxygenase. Feedback regulation by glucocorticoids. *Biochem. J.* 1991; **279**: 891–4.
- 37 Stevens JL, Ratnayake JH, Anders MW. Metabolism of dihalomethanes to carbon monoxide. IV. Studies in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1980; **55**: 484–9.
- 38 Zayasu K, Sekizawa K, Okinaga S *et al.* Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; **156**: 1140–3.
- 39 Horvath I, Loukides S, Wodehouse T *et al.* Comparison of exhaled and nasal nitric oxide and exhaled carbon monoxide levels in bronchiectatic patients with and without primary ciliary dyskinesia. *Thorax* 2004; **58**: 68–72.

40 Giuca MR, Giuggioli E, Metelli MR *et al.* Effects of cigarette smoke on salivary superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* 2010; **24**: 359–66.

TABELAS

Tabela 1. Dados demográficos e espirométricos, comportamento tabagístico e teste de Fagerström para dependência a nicotina dos indivíduos do grupo de cessação do tabagismo e do grupo controle.

Características	Grupo de cessação ao tabagismo (n = 33)	Grupo controle (n = 33)	P-valor
Demográficas			
Gênero masculino (%)	55	36	0,14
Idade, anos ; média ± DP	49 ± 12	52 ± 14	0,44
IMC, Kg/m ² ; média ± DP	26 ± 4	26 ± 4	0,43
Valores espirométricos			
VEF ₁ /CVF (%); média ± DP	78 ± 8	81 ± 4	0,27
CVF (L), média ± DP	3,5 ± 1,1	4,1 ± 0,8	0,67
CVF (%Pred.); média ± DP	100 ± 17	102 ± 14	0,66
VEF ₁ (%Pred.); média ± DP	2,6 ± 0,9	3,4 ± 0,7	0,06
Comportamento Tabagístico			
Tempo de fumo; média ± DP	21 ± 8	-	
Anos maço; média ± DP	44 ± 25	-	
Cigarros/dia; média ± DP	20 ± 10	-	
Fumantes leves, (%)	49		
Fumantes moderados, (%)	30		
Fumantes intensos, (%)	21		
Questionário de Fagerstrom, (%)			
Baixo	21	-	
Moderado	76	-	
Elevado	3	-	

Tabela 2. Dados demográficos, escolaridade, comportamento tabagístico, medicação usada para parar de fumar e dependência a nicotina de acordo com o Questionário de Fagerström dos fumantes que pararam e não pararam de fumar.

Características	Fumantes abstinentes por 180 dias (n=9)	Fumantes que não pararam (n = 24)
Demográficas		
Gênero masculino (%)	67	50
Idade, anos; média ± DP	54 ± 12	47 ± 12
IMC, Kg/m ² ; média ± DP	24 ± 4	26 ± 4
Escolaridade (%)		
1º grau completo	27	54
2º grau completo	11	33
Superior completo	67*	13
Comportamento Tabagístico		
Tempo de fumo; média ± DP	17 ± 10	22 ± 7
Anos maço; média ± DP	20 ± 9	28 ± 14
Cigarros/dia; média ± DP	16 ± 11	21 ± 10
Fumantes leves, (%)	67*	42
Fumantes moderados, (%)	22	33
Fumantes intensos, (%)	11	25
Medicação utilizada (%)		
Nenhuma	22	33
Antidepressivo (bupropiona)	11*	15
Terapia de reposição de nicotina (adesivos transdérmicos)	67	52
Questionário de Fagerstrom, (%)		
Baixo	45	17
Moderado	55	79
Elevado	0	4

FIGURAS

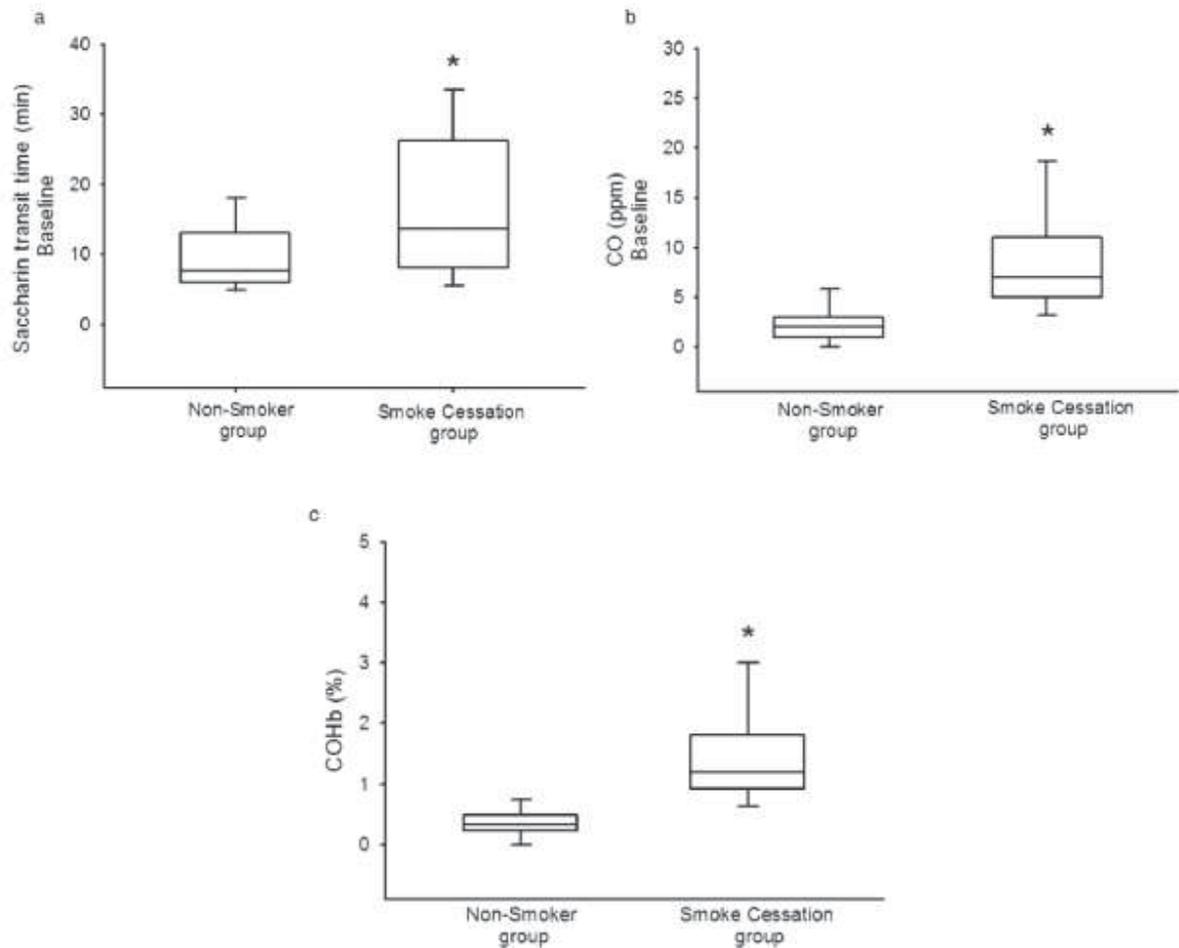


Figura 1. Valores iniciais do tempo de trânsito de sacarina (a) monóxido de carbono no ar exalado (b) e carboxihemoglobina (c) em fumantes (n=33) comparado com não fumantes (n=33). Dados apresentados em mediana e (intervalo interquartílico 25-75). * $P < 0,01$, ** $P < 0,001$, para comparação entre não fumantes e fumantes do grupo que parou de fumar em (a), (b) e (c), respectivamente.

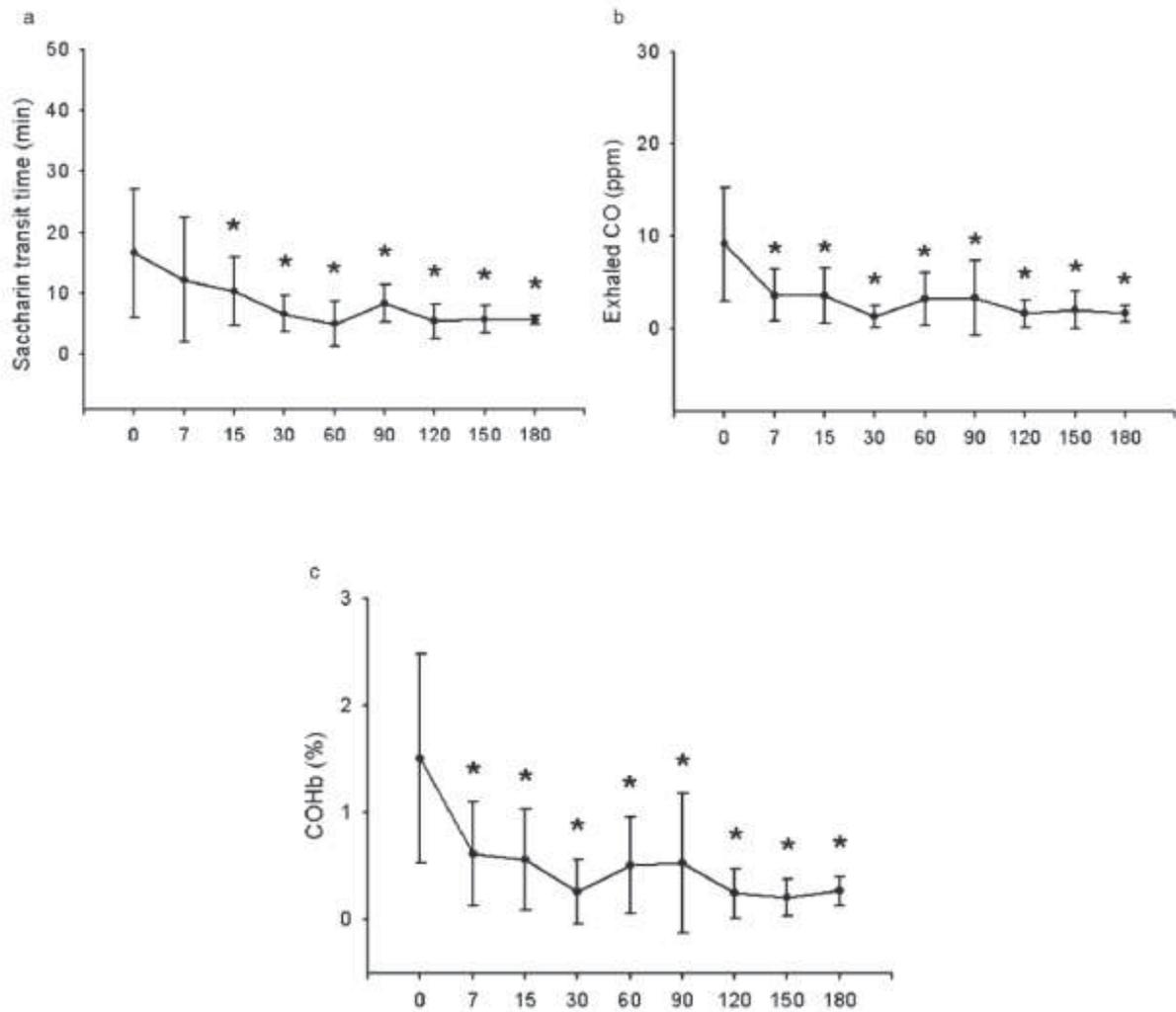


Figura 2. (a) Tempo de trânsito de sacarina (b) monóxido de carbono no ar exalado (c) e carboxihemoglobina (COHb) após 7 (n=33), 15 (n=33), 30 (n=19), 60 (n=15), 120 (n=11) e 180 (n=9) dias de cessação do tabagismo, comparado com os valores iniciais. Valores em média \pm DP. * $P < 0,001$, para comparações com os valores iniciais em (a), (b) e (c), respectivamente.

Conclusões

A partir desta dissertação pode-se concluir que o transporte mucociliar está prejudicado em fumantes quando comparado a não fumantes, e que este prejuízo é mais evidente em fumantes com consumo diário moderado e intenso de cigarros, mostrando que os prejuízos causados pelo tabagismo no transporte mucociliar são influenciados pela intensidade de exposição ao tabaco. Além disso, também foi observado que a abstinência ao tabagismo por um período de 15 dias foi capaz de promover melhoras no transporte mucociliar destes indivíduos e que tal efeito se manteve por um período de seis meses de acompanhamento.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Rosemberg J. Pandemia do tabagismo: enfoques históricos e atuais. São Paulo: Secretaria da Saúde, 2002. 184 p.
2. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006; 3: 442.
3. Haustein KO. Pharmacotherapy of nicotine dependence. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics.* 2000; 38: 273-90.
4. Floreani AA, Rennard SI. The role of cigarette smoke in the pathogenesis of asthma as a trigger for acute symptoms. *Curr Opin Pulm Med.* 1999; 5: 38–46.
5. Takizawa H, Tanaka M, Takami K et al. Increased expression of inflammatory mediators in small-airway epithelium from tobacco smokers. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000; 278: 906–13.
6. Wang H, Liu X, Umino T et al. Cigarette smoke inhibits human bronchial epithelial cell repair processes. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001; 25: 772–9.
7. Nunes E. Consumo de tabaco. Efeitos na saúde. *Rev Port Clínica Geral.* 2006; 22 (44): 225-44.
8. Janice AD, Kenneth BA. Occasional review Effects of cigarette smoke on epithelial cells of the respiratory tract. *Thorax.* 1994; 49: 825-34.
9. Koczulla AR. et al. Acute and Chronic Effects of Smoking on Inflammation Markers in Exhaled Breath Condensate in Current Smokers. *Basic Science Investigations Respiration.* 2010; 79: 61–7.
10. Ferri RG, Guilherme AZ, Guilherme A, Gregório IC. Análise do clearance mucociliar nasal e dos efeitos adversos do uso de cpap nasal em pacientes com sahos. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2004; 70(2): 150-5.

11. Lan MY, Ho CY, Lee TC, Yang AH. Cigarette smoke extract induces cytotoxicity on human nasal epithelial cells. *Am J Rhinol.* 2007; 21:218-23.
12. Van Winkle LS, Evans MJ, Brown CD, Willits NH, Pinkerton KE, Plopper CG. Prior Exposure to aged and diluted sidestream cigarette smoke impairs bronchiolar injury and repair. *Toxicol Sci.* 2001;60(1):152-64.
13. Gaworski CL, Dozier MM, Eldridge SR, Morrisey R, Rajendran N, Gerhart JM. Cigarette smoke vapor-phase effects in the rat upper respiratory tract. *Inhalation Toxicol.* 1998;10:857-73.
14. Agius AM, Wake M, Pahor AL, Smallman LA. Smoking and middle ear ciliary beat frequency in otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol. (Stockh)* 1995;115:44-9.
15. Mullen JBM, Wright JL, Wiggs BR, Pare PD, Hogg JC. Structure of central airways in current smokers and ex-smokers with and without mucus hypersecretion: relationship to lung function. *Thorax.* 1987; 42:843-8.
16. Wright JL, Lawson LM, Kennedy S, Wiggs B, Hogg JC. The detection of small airways disease. *Am Rev Respir Dis.* 1984;129:989-94.
17. Cohen NA, Zhang S, Sharp DB, Tamashiro E, Chen B, Sorscher EJ et al. Cigarette smoke condensate inhibits transepithelial chloride transport and ciliary beat frequency. *Laryngoscope* 2009; 119(11): 2269-74.
18. Kreindler JL, Jackson AD, Kemp PA, Bridges RJ, Danahay H. Inhibition of chloride secretion in human bronchial epithelial cells by cigarette smoke extract. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005;288:894-902.
19. Elliott MK, Sisson JH, Wyatt TA. Effects of Cigarette Smoke and Alcohol on Ciliated Tracheal Epithelium and Inflammatory Cell Recruitment. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;36: 452-9.

20. Knoll, M. et al. Ciliary beat frequency of hamster oviducts is decreased in vitro by exposure to solutions of mainstream and sidestream cigarette smoke. *Biol Reprod.* 1995; 53: 29–37.
21. Sisson, JH. et al. Smoke and viral infection cause cilia loss detectable by bronchoalveolar lavage cytology and dynein ELISA. *Am J Respir Crit Care Med*, 149: 205–13.
22. Vander Top EA, Wyatt TA, Gentry-Nielsen MJ. Smoke Exposure Exacerbates an Ethanol-Induced Defect in Mucociliary Clearance of *Streptococcus pneumoniae*. *Alcohol Clin Exp Res.* 2005; 5(29): 882–7.
23. Ho JC. et al. The effect of aging on nasal mucociliary clearance, beat frequency, and ultrastructure of respiratory cilia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163: 983-8.
24. Özlü T, Çelik I, Öztuna F, Bülbül Y, Özsu S. *Streptococcus pneumoniae* Adherence in Rats under Different Degrees and Durations of Cigarette Smoke. *Respiration* 2008;75:339–344
25. Corbo GM. et al. Measurement of nasal mucociliary clearance. *Arch Dis Child.* 1989; 64: 546-50.
26. Vália PP, Valero FC, Pardo JM, Rentero DB, Monte CG. Saccharin test for the study of mucociliary clearance: reference values for a spanish population. *Arch Bronconeumol.* 2008; 44(10): 540-5.
27. Stanley PJ. et al. Effect of cigarette smoking on nasal mucociliary clearance and ciliary beat frequency. *Thorax.* 1986; 41: 519-23.
28. Konrad FX, Schreiber T, Bretcht-Kraus D, Georgieff M. Bronchial Mucus Transport in chronic smokers and nonsmokers during general anesthesia. *Journal of Clinical Anesthesia.* 1993; 5(5): 375-80.
29. Verra F, Escudier E, Lebargy F, et al. Ciliary abnormalities in bronchial epithelium of smokers, ex-smokers, and nonsmokers. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 151: 630–634.

30. Nakagawa N et al. Mucociliary Clearance is Impaired in Acutely III Patients. American College of Chest Physicians. 2005; 128 (4): 2772-7.
31. Proença M, Xavier R, Ramos D, Cavalheri V, Pitta F, Ramos E. Immediate and short term effects of smoking on nasal mucociliary clearance in smokers. Rev Port Pneumol. 2011; Apr 20. [Epub ahead of print].
32. Wald NJ, Idle M, Boreham J, Bailey A (1981) Carbon monoxide in breath in relation to smoking and carboxyhaemoglobin levels. Thorax 36: 366–369.
33. Jarvis MJ, Russell MA, Saloojee Y (1980) Expired air carbon monoxide: a simple breath test of tobacco smoke intake. Br Med J 281: 484–485.
34. Andersson MF, Moller AM (2010) Assessment of carbon monoxide values in smokers: a comparison of carbon monoxide in expired air and carboxyhaemoglobin in arterial blood. Eur J Anaesthesiol 27: 812–818.
35. Sato S, Nishimura K, Koyama H, Tsukino M, Oga T, et al. (2003) Optimal cutoff level of breath carbon monoxide for assessing smoking status in patients with asthma and COPD. Chest 124: 1749–1754.
36. Kharitonov SA, Barnes PJ (2001) Exhaled markers of pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 163: 1693–1722.
37. Cosio MG, Hale KA, Niewoehner DE. Morphologic and morphometric effects of prolonged cigarette smoking on the small airways. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1980; **122**(2): 265-271.
38. Rosemberg, José. Nicotina. Droga Universal. São Paulo: Secretaria Estadual de Saúde/Centro de Vigilância Epidemiológica, 2003. 178p.
39. Arcavi L, Benowitz NL. Cigarette smoking and infection. Arch Intern Med. 2004; 164(20): 2206-16.

40. Mirra AP. Resgate Histórico do Controle do Tabagismo na Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo: relato de uma experiência. *Saúde Soc. São Paulo.* 2009; 18(1): 164-70.
41. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - INCA. *Abordagem e Tratamento do Fumante - Consenso 2001.* Rio de Janeiro: INCA, 2001. 38p.
42. Rigotti, N. Treatment of tobacco use and dependence. *New England Journal of Medicine.* 2002; 346: 506–12.
43. GLOBAL status report on non communicable diseases. Genebra: World Health Organization, 2010. 167p.
44. Zhu S, Melcer T, Sun J, et al. Smoking cessation with and without assistance: a population-based analysis. *Am. J. Prev. Med.* 2000; 18: 305–11.
45. Godtfredsen NS, Holst C, Prescott E, et al. Smoking reduction, smoking cessation, and mortality: a 16-year follow-up of 19 732 men and women from The Copenhagen Centre for Prospective Population Studies. *Am. J. Epidemiol.* 2002; 156: 994–1001
46. Lancaster T, Stead L, Silagy C, Sowden A. Effectiveness of interventions to help people stop smoking: findings from the Cochrane Library. *BMJ.* 2000; 321: 355– 8.

Anexo 1

ANEXO I

Normas para publicação no periódico *Respirology* (ISSN 1323-7799)

ORIENTAÇÕES AO AUTOR

Respirology (ISSN 1323-7799; Fator de Impacto 2010: 1.865; Área: educação física – Qualis A2) é a revista oficial da Sociedade de Respirologia Ásia-Pacífica. É a revista de idioma inglês eleita pela Sociedade Respiratória Japonesa, pela Sociedade Torácica da Austrália e Nova Zelândia e pela Sociedade de Medicina Pulmonar e Crítica de Taiwan. A revista publica artigos originais de interesse internacional sobre pesquisas clínicas e laboratoriais que são pertinentes à biologia e doenças respiratórias. Manuscritos sobre qualquer assunto dentro do campo da medicina respiratória, biologia celular e molecular, epidemiologia, imunologia, patologia, farmacologia, fisiologia, terapia intensiva e crítica, medicina respiratória em pediatria, broncoscopia, pneumologia intervencionista e cirurgia torácica são bem-vindas.

Submissão

Trabalhos são publicados na *Respirology* próximas às datas de aceite final, sob os seguintes títulos: Editoriais, Revisões, Artigos Originais e Cartas ao Editor com as sub-categorias de Cartas científicas, Notas clínicas e Correspondência.

Antes de submeter seu manuscrito leia as instruções e use nossa lista de preparo do manuscrito. Contribuições que não cumprem com os requisitos da revista serão devolvidos aos autores para correção antes de serem peer reviewed. As submissões devem ser feitas on-line em <http://mc.manuscriptcentral.com/res>.

Ética e princípios de pesquisa

Manuscritos em matéria de investigação apoiados no todo ou em parte, por empresas de tabaco e institutos associados e organizações não serão consideradas para publicação. Autores são obrigados a cumprir rigorosos padrões éticos e humanos para a pesquisa, em conformidade com as disposições da última atualização da Declaração de Helsinki WMA (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>). Para garantir isso, o consentimento deve ser obtido de cada paciente após explicação completa sobre a finalidade, natureza e os riscos de todos os procedimentos, e o protocolo de pesquisa deve ser aprovado por um Comitê de Ética devidamente constituída na instituição em que o trabalho foi realizado. Para estudos com animais, a aprovação de um comitê de ética animal deve ser obtida. O comprovante de aprovação do comitê de ética deve ser apresentado no manuscrito na seção Métodos.

Princípios de publicação

Os manuscritos devem estar de acordo com as orientações revistas do Comitê Internacional de Editores de Periódicos Médicos (ICMJE), publicado como Requisitos Uniformes para Manuscritos Submetidos a Revistas Biomédicas: <http://www.ICMJE.org/>.

Conflito de interesses e de declaração de autoria

Respirology exige que todos os autores revelem qualquer conflito potencial ou real de juros, mediante a apresentação de seu manuscrito. Tais informações serão mantidas em sigilo enquanto o artigo estiver em revisão e não influenciará na decisão editorial. Se o artigo for aceito para publicação, os editores podem exigir que o conflito de interesses seja declarado. Respirology também requer exclusividade dos autores para a revista e não aceitará contribuições originais contendo porções significativas de material publicado ou submetido para publicação em outros lugares, exceto para resumos de não mais que 400 palavras. Respirology emprega um sistema de

detecção de plágio e, através da apresentação de um manuscrito a este periódico, os autores aceitam que seus manuscritos possam ser rastreados por plágio contra as obras publicadas anteriormente. Todas as pessoas listadas como autores devem estar qualificadas para a autoria, conforme definido pelo ICMJE (http://www.icmje.org/ethical_1author.html) e todas as pessoas qualificadas para estes requisitos devem ser listadas como autores. Não mais de dez autores devem ser listados para qualquer apresentação.

Uso de material protegido por direitos autorais

É de responsabilidade dos autores garantir todas as autorizações necessárias para uso e/ou reprodução de qualquer material com direitos autorais, tais como figuras, tabelas, fotografias, bem como questionários. Permissão assinada pelo detentor dos direitos autorais (geralmente o editor) para usar e/ou reproduzir material publicado anteriormente deve ser informado no momento da apresentação e carregado com os arquivos de manuscrito. Certifique-se que a permissão é obtida para ambos os impressos e meios eletrônicos de divulgação.

Registro de Ensaio Clínico

Ensaio clínico iniciado após 01 de julho de 2005 deve ser registrado em um banco de ensaios de livre acesso, antes da inscrição do primeiro participante para o manuscrito a ser consideradas para publicação. Autores devem explicitar em Métodos o site de inscrição e o número de referência.

Expressão inglesa e estilo de manuscrito

Todas as contribuições devem ser escritas em Inglês e a ortografia deve estar de acordo com o *Concise Oxford English Dictionary*. Os editores estão no direito de devolver os manuscritos se o nível de Inglês for inferior à requerida para external peer review. A lista de serviços de edição e está disponível em

http://authoservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. disso, os Editores ito de modificar o texto dos manuscritos aceitos para eliminar a ambigüidade e repetição e melhorar a comunicação entre autor e leitor. Ao seguir esta prática o conteúdo científico não será alterado. Se as alterações necessárias são extensas, o manuscrito será devolvido ao autor para revisão e/ou aprovação.

Siglas e abreviaturas padrão

Um conjunto padrão de abreviaturas admissível é indicada no final das Instruções aos Autores. Estas abreviaturas não precisam ser definidas no manuscrito. O uso de abreviaturas não-padrão é desencorajado. Se abreviaturas não-padrão forem utilizadas, elas devem ser definidas em primeira menção no corpo do manuscrito. Quando estas abreviaturas são utilizadas no resumo, tabelas ou figuras devem ser redefinidas no resumo, na legenda da figura ou da tabela.

Métodos estatísticos e hipóteses

Se for o caso, todos os artigos originais devem indicar a hipótese de que está sendo testado e detalhar o método estatístico utilizado.

ARTIGOS ORIGINAIS

Artigos originais não devem ser maior do que 2500 palavras, excluindo o resumo (máximo 250 palavras), referências, tabelas e legendas de figuras.

Estrutura do artigo e formatação

Os manuscritos devem ser digitados em espaço duplo (incluindo referências, tabelas, legendas, figuras e notas de rodapé) em papel A4, tamanho 12, com 3 cm de margens superior e esquerda. Todas as páginas devem ser numeradas consecutivamente começando com a página título. Os manuscritos devem conter uma página de título, palavras-chave, título curto, o texto do manuscrito, agradecimentos, referências, tabelas, legendas e figuras.

Página de título

A página de título deve incluir o título e todos os autores com nomes completos e afiliações. O endereço para contato, número de fax e e-mail para o autor correspondente deve também ser fornecida, bem como o papel de cada autor no estudo.

Resumo de relance

Para Artigo Original deve-se fornecer um “Resumo at a Glance” (resumo de relance), que afirma brevemente, em menos de 50 palavras, o que está sendo testado e que o estudo apresentado contribui para a literatura.

Resumo e palavras-chave

Dos artigos originais, fornecer um resumo conciso de no máximo 250 palavras, estruturado da seguinte forma: Justificativa e objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões. O resumo não deve conter referências ou notas de rodapé.

Cinco palavras-chave, em ordem alfabética abaixo do resumo, devem ser fornecidas para fins de indexação, e deve ser selecionado a partir do Medical Subject Headings (MeSH) lista fornecida pela Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>.

Título curto

Um título curto de menos de 40 caracteres (incluindo espaços) deve ser fornecido.

Texto

Os artigos originais devem ser organizados sob os títulos usuais de Introdução, Métodos, Resultados e Discussão. Métodos (incluindo métodos estatísticos utilizados, desenho do estudo, o recrutamento dos participantes e coleta de amostras) devem ser descritos com detalhes suficientes para deixar claro como os resultados foram derivados. O local (cidade,

estado, país) de fabricantes especificado no texto deve ser fornecido. Nomes genéricos dos medicamentos devem ser usados. Unidades SI devem ser utilizados por toda parte, com poucas exceções, por exemplo, pressão arterial (mmHg). Se os valores monetários são mencionados no manuscrito, a equivalência em dólares dos EUA também deve ser apresentada. Quando aplicável, declarações relativas à Comissão de Ética e aprovação do Conselho de Revisão Interna e consentimento informado por escrito devem ser incluídos nesta seção.

Agradecimentos

Agradecimentos de pessoas (incluindo a sua filiação), que fez uma contribuição significativa e que endossam os dados e conclusões devem ser incluídos. Reconhecimento das fontes de financiamento é necessária. Submissões contendo apoio da NIH deve incluir o número de concessão em seus agradecimentos.

Referências

Formatação de referência e pontuação deve estar de acordo com o estilo da revista, que é baseado no sistema de Vancouver.

Exemplos a seguir:

Artigo padrão

Lista dos três primeiros autores, se mais adicionar et al. O número de emissão não deve ser citado.

1 Lahita R, Kluger J, Drayer DE, et al. Anticorpos contra antígenos nucleares em pacientes tratados com procainamida ou acetylprocainamide. N. Engl. J. Med. 1979; 301: 1382-5.

Livros e outras monografias

2 Cade JF, Pain MCF. Essentials of Medicine respiratória. Blackwell Science, Oxford, 1988.

Capítulo de um livro

3 Colby VT, CB Carrington. Doença pulmonar infiltrativa. In: Thurlbeck WM (ed.) Patologia do Pulmão. Thieme Medical Publishers, New York, 1988; 198-213.

Material eletrônico

4. Organização Mundial da Saúde, 03 de julho de 2003. Atualização 94: Preparação para a temporada de influenza seguida em um mundo alterado pela SRA. <http://www.who.international/csr/disease/influenza/sars>. Acesso em: 15 de setembro de 2003.

Artigo on-line ainda não publicado em uma edição

Um artigo on-line que ainda não foi publicada em uma edição (portanto, não tem números de volume, fascículo ou páginas) podem ser citados pelos seus Digital Object Identifier (DOI). O DOI permanecerá válida e permitir que um artigo a ser rastreado, mesmo após a sua atribuição a um problema.

5 Walker J, Kelly PT, Beckart política Airline L. de passageiros que necessitam de oxigênio durante o voo suplementar. *Respirology* 2009 doi 10.1111/j.1440-1843.2009.01521.x

As referências devem ser citadas no texto, tabelas e legendas, usando números arábicos sobrescritos (depois dos sinais de pontuação se for o caso), na ordem em que aparecem pela primeira vez no texto. As referências devem ser digitadas em espaço duplo e numeradas consecutivamente. Títulos de periódicos devem ser abreviados na lista de referência de acordo com o estilo usado no Index Medicus. Observações não publicadas e comunicações pessoais não devem ser listados como referências, mas podem ser incorporadas no texto e afirmadas, como tal, entre parênteses. Referências a artigos em um idioma diferente do Inglês que não têm um resumo Inglês não deve ser usado.

Tabelas

As tabelas devem ser fornecidas no arquivo do manuscrito, em páginas separadas com uma tabela por página, e cada mesa acompanhada por uma legenda descritiva no topo. Cada tabela deve ser referida no texto e numerada na ordem de menção. Material explicativo deve ser colocado em notas de rodapé abaixo da tabela e não incluída no título. Todas as abreviaturas não padrão devem ser definidas nas notas de rodapé. Notas de rodapé devem ser indicadas por *, †, ‡, §. Termos estatísticos, tais como SD ou SEM devem ser identificados nas posições. Uso da função "Tabela" o processamento de texto para criar tabelas é incentivada, caso contrário, use apenas uma guia (e não espaços) para separar cada coluna em uma tabela. Linhas verticais e horizontais entre as entradas devem ser omitidos.

Figura e Legenda

Legendas devem ser fornecidas em uma página separada no arquivo de manuscrito e não deve aparecer nos arquivos figura. Cada figura deve ser referida no texto e numerada na ordem de menção. Símbolos, setas ou letras e números utilizados para identificar partes das ilustrações devem ser identificadas e explicadas na legenda. A descrição na legenda deve ser suficiente para o leitor a interpretar a figura sem referência ao texto.

Figura e Arte Eletrônica

Figuras devem ser apresentadas em tamanho real para caber única coluna (81 mm), coluna dupla (169 mm) ou coluna intermediária (118 mm) de largura. Arte eletrônica deve ser apresentada como TIFF (imagens digitais) ou EPS (arte de linha) de pelo menos 300 dpi de resolução. Por favor, note que estes são os requisitos mínimos para a resolução de figura e manuscritos contendo figuras que não atendam estas especificações podem ser devolvidos aos autores para correção antes de serem peer reviewed. Cada figura deve estar contida em um arquivo separado e não deve ser inserido no arquivo de manuscrito. Ilustrações devem ser

imagens nítidas. Autores devem consultar <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp> para mais detalhes. Letras, números e símbolos devem ser claros e legíveis. Títulos, chaves e explicações detalhadas devem limitar-se a legendas sem incluir ilustrações. Cada figura deve ser identificada claramente com o seu número. Fotografias de pessoas devem ser retocadas para tornar o assunto não identificáveis, ou ser acompanhadas de permissão escrita do sujeito ao uso da fotografia.

Aviso legal e reservas

O Conselho de Editor-Chefe e Editorial se reserva o direito de recusar qualquer material para publicação, e de aceitar manuscritos condicionados à mudanças no seu conteúdo e categoria de publicação. Qualquer decisão final cabe ao Conselho Editorial. O Asian Pacific Society of Respiriology, o Conselho Editorial e os editores não podem ser responsabilizados por erros ou quaisquer consequências decorrentes do uso das informações contidas no Jornal.

Direitos autorais

Os autores serão convidados a assinar um formulário de licença exclusiva, obtido a partir do site http://www.blackwellpublishing.com/pdf/RES_ELF2010.pdf. Todos os autores devem ler e concordar com as condições descritas no formulário, e devem assinar o formulário ou concordar que o autor assine em seu nome. Os artigos não podem ser publicados até os formulários assinados sejam recebidos.

Ao assinar o Formulário de licença exclusivo presume-se que os autores tenham obtido autorização para utilizar direitos autorais ou materiais previamente publicados.

ORIGINAL ARTICLE

Reversibility of impaired nasal mucociliary clearance in smokers following a smoking cessation programmeERCY MARA CIPULO RAMOS,¹ ALESSANDRA CHOQUETA DE TOLEDO,¹ RAFAELLA FAGUNDES XAVIER,¹ LUCIANA CRISTINA FOSCO,¹ RODOLFO PAULA VIEIRA,² DIONEI RAMOS³ AND JOSÉ ROBERTO JARDIM²¹Department of Physiotherapy, São Paulo State University (UNESP), Presidente Prudente and ²Department of Pneumology, Federal University of São Paulo (UNIFESP), São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil, and ³Department of Pneumology, University Hospital Freiburg, Freiburg, Germany**ABSTRACT**

Background and objective: Smoking cessation (SC) is recognized as reducing tobacco-associated mortality and morbidity. The effect of SC on nasal mucociliary clearance (MC) in smokers was evaluated during a 180-day period.

Methods: Thirty-three current smokers enrolled in a SC intervention programme were evaluated after they had stopped smoking. Smoking history, Fagerström's test, lung function, exhaled carbon monoxide (eCO), carboxyhaemoglobin (COHb) and nasal MC as assessed by the saccharin transit time (STT) test were evaluated. All parameters were also measured at baseline in 33 matched non-smokers.

Results: Smokers (mean age 49 ± 12 years, mean pack-year index 44 ± 25) were enrolled in a SC intervention and 27% (n = 9) abstained for 180 days, 30% (n = 11) for 120 days, 49.5% (n = 15) for 90 days or 60 days, 62.7% (n = 19) for 30 days and 75.9% (n = 23) for 15 days. A moderate degree of nicotine dependence, higher education levels and less use of bupropion were associated with the capacity to stop smoking ($P < 0.05$). The STT was prolonged in smokers compared with non-smokers ($P = 0.002$) and dysfunction of MC was present at baseline both in smokers who had abstained and those who had not abstained for 180 days. eCO and COHb were also significantly increased in smokers compared with non-smokers. STT values decreased to within the normal range on day 15 after SC ($P < 0.01$), and remained in the normal range until the end of the study period. Similarly, eCO values were reduced from the seventh day after SC.

Conclusions: A SC programme contributed to improvement in MC among smokers from the 15th day after cessation of smoking, and these beneficial effects persisted for 180 days.

SUMMARY AT A GLANCE

Mucociliary clearance was measured in smokers enrolled in a Smoke Cessation Intervention Programme. Impairment of nasal mucociliary transport in smokers was reversed from the 15th day after cessation of smoking, and these beneficial effects persisted for 6 months.

Key words: airway epithelium, mucociliary transport, public health, smoking cessation, tobacco.

INTRODUCTION

Smoking of tobacco is the leading cause of preventable deaths worldwide.¹ Currently, approximately six million people worldwide die from smoking-induced diseases each year, and according to the World Health Organization, smoking-related deaths are projected to rise to eight million per year by 2030.¹ Exposure to tobacco smoke is a significant risk factor for the development of respiratory diseases, including COPD, and a number of other diseases. Besides, smoking of tobacco is associated with exacerbations of pulmonary diseases.^{2,3} Tobacco smoke is a complex mixture of thousands of toxic chemical compounds, of which more than 200 are highly toxic.⁴ High levels of oxidants and reactive oxygen species have been detected in both mainstream and sidestream smoke, resulting in a large oxidant burden at the epithelial surface of the lung.⁵ Endogenous production of carbon monoxide (CO) is usually linked to oxidative stress.^{6,7}

Exposure to cigarette smoke induces a significant decrease in host defence resulting from mucociliary clearance in the nose and airways. This mucociliary clearance mechanism provides essential protection against a wide variety of noxious inhaled particles and microorganisms by unidirectional transport towards the oropharynx.⁸ The saccharin transit time (STT) test has been shown to be a simple, cheap, reproducible and effective method of assessing mucociliary clearance and its use is widely accepted.⁹

Correspondence: ErCy Mara Cipulo Ramos, Departamento de Fisioterapia, Universidade Estadual Paulista, Rua Roberto Simonsen, n° 305, 13060-900, Presidente Prudente, São Paulo, Brazil. Email: ercy@foc.unesp.br

Received 21 December 2010; invited to revise 23 January 2011; revised 13 February 2011; accepted 9 March 2011 (Associate Editor: Chi Chu Leung).

Comprehensive smoking cessation programmes are regarded as the most effective method of reducing tobacco-related mortality and morbidity. In the absence of any assistance, only 6% of attempts to quit smoking are successful.^{12,13} Smoking cessation programmes with 1 year of follow-up increase the rate of quitting by around 30%.¹⁴ Measurements of exhaled CO have been shown to be useful for the detection and management of smoking status in these smoking cessation programmes.¹⁵ Smoking cessation is associated with improved lung function and reduction in respiratory symptoms, airway inflammation and endothelial dysfunction.¹⁶ Despite the clear benefits of smoking cessation for respiratory health, the specific effects on mucociliary transport have not been fully investigated. We hypothesized that mucociliary clearance is improved after smokers enrolled in a smoking cessation programme abstain from smoking. To test this hypothesis, STT was measured in ex-smokers, 12 h after cessation of smoking and during a 6-month follow-up period.

METHODS

Subjects

Individuals enrolled in the 'Anti-Tobacco Orientation and Awareness' programme at the Faculty of Sciences and Technology, São Paulo State University (FCT/UNESP), Brazil were invited to participate in this study. Participants gave written informed consent according to the Declaration of Helsinki of the World Medical Association. During the first month, patients underwent a weekly assessment of lung function, and measurements of exhaled CO and nasal mucociliary clearance. For the last 5 months of the study these measurements were performed on a monthly basis. Two groups of subjects were evaluated: 33 current smokers enrolled in the Anti-Tobacco Orientation and Awareness programme (smoking cessation group) and 33 non-smoking individuals (control group). Individuals with cystic fibrosis, bronchiectasis, immotile cilia syndrome, a history of nasal surgery or trauma, inflammation of the upper airways or smoking-related diseases were excluded. The study was approved by the Ethics and Research Committee of São Paulo State University.

Study design and protocol

All individuals underwent an interview in order to obtain personal data, a detailed smoking history and a complete medical history. The Fagerström Tolerance Questionnaire was completed at the first appointment.¹⁷ In the smoking cessation group, spirometry and measurements of exhaled CO, carboxyhaemoglobin (COHb) and nasal mucociliary transport by the STT test were performed at baseline (12 h after smoking the last cigarette) and again at 7, 15, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days after cessation of smoking and while individuals continued to abstain from

smoking. A group of non-smokers with similar demographic characteristics was also evaluated at baseline.

Smoking cessation programme

The smoking cessation programme was originally developed by the National Cancer Institute (INCA) in Brazil.¹⁸ This programme is based on cognitive behavioural treatment, either with or without the aid of medical therapy. The behavioural programme consisted of 20 sessions that were offered to the participants during the course of 1 year. In the first 2 weeks, four 1-h sessions were offered to groups of 10–15 smokers. It was expected that the smokers would quit smoking after the fourth meeting. Sessions 4–10 were offered in the following 6 weeks, to guide subjects through the smoking cessation phase. Sessions 11–20 were offered on a monthly basis, to maintain abstinence from smoking for up to 1 year. During the programme, particular attention was paid to the benefits of smoking cessation, and ex-smokers had the opportunity to call a counsellor and/or receive individual support between meetings whenever it was necessary. Smoking cessation was considered successful when participants maintained their abstinence from smoking for at least 6 months.¹⁹ An ex-smoker was defined as someone who had refrained from smoking for at least 1 year.

Measurement of lung function and exhaled CO

Spirometry was performed according to the guidelines of the American Thoracic Society,²⁰ using a portable spirometer (Spirobank-MIR version 3.6, MIR, Rome, Italy). Reference values specific for the Brazilian population were used.²¹ Exhaled CO levels were used as a biochemical marker for abstinence from smoking, and were used in combination with self-reported smoking status.¹⁵ Exhaled CO and carboxyhaemoglobin (%COHb) were measured using a CO analyser (Micro CO Meter, Cardinal Health, Basingstoke, UK).²² Subjects were instructed to hold their breath for 20 s and then to exhale slowly from functional vital capacity through a mouthpiece. Two successive recordings were performed and the highest value was used. A low threshold for exhaled CO levels (<8 ppm) was used in order to verify abstinence from smoking with a high degree of certainty.²³

Measurement of mucociliary clearance by the STT test

The technique for measuring nasal mucociliary clearance has been reported previously.¹¹ In brief, granulated sodium saccharin (250 µg) was deposited under visual control at a point about 2 cm inside the right nostril. Nasal mucociliary transport was measured as the time it took for subjects to perceive a sweet taste. If no response was reported at 60 min,

the test was concluded after confirming the subject had normal sweet taste perception by placing saccharin powder directly on the tongue. Individuals were instructed not to breathe deeply, talk, cough, sneeze or sniff during the test. Participants were also instructed not to use pharmacological agents such as anaesthetics, analgesics, barbiturates, tranquilizers and antidepressants, as well as alcohol and caffeine-based substances, during the 12 h preceding the test. Tests were conducted between 8 and 9 AM for all participants, to avoid variation in the analysed parameters.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using Sigma Stat 10 software (Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA). Comparisons of baseline values between non-smokers and the smoking cessation group were performed using *t*-tests. To compare determinants of quitting behaviour between individuals who dropped out and those who abstained from smoking for 180 days, with consideration of qualitative variables such as gender, educational level, Fagerström's test, medication use and the number of cigarettes smoked per day, the Goodman test was used. Comparisons of exhaled CO, COHb and STT test values at different times during the smoking cessation programme were performed by repeated measures analysis of variance, followed by the Holm-Sidak test for parametric data, or by analysis of variance on ranks followed by Dunn's test for non-parametric data. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

RESULTS

Thirty-three individuals enrolled in a smoking cessation group and 33 healthy subjects (control group) were included in this study. The mean ages of the smoking cessation group and the control group were 49 ± 12 years and 52 ± 14 years, respectively, and their mean BMI were 26 ± 3 kg/m² and 26 ± 4 kg/m² respectively. Demographic and spirometric data, as well as data on smoking behaviour and Fagerström's test for nicotine dependence, for subjects in the smoking cessation and control groups are presented in Table 1. There were no differences in demographic characteristics between the groups. Baseline lung function was significantly lower in smokers than in non-smokers (FEV₁, 2.6 ± 0.9 L and 3.4 ± 0.7 L, respectively, $P < 0.001$).

Nine subjects in the smoking cessation group (27%) abstained from smoking for the entire 180-day period. Twenty-three of the 33 patients were not smoking 2 weeks after starting the programme, 19 were not smoking after 30 days, 15 after 90 days, 11 after 120 days and 9 after 180 days. Individuals who were still abstaining after 180 days showed baseline characteristics of light to moderate levels of nicotine dependence, higher education levels and less use of bupropion, as compared with patients who started smoking again after an initial attempt to quit (Table 2).

Baseline values for the STT test were prolonged in smokers compared with non-smokers ($P = 0.002$) (Fig. 1a). Exhaled CO and COHb were also significantly increased in smokers compared with non-smokers (Fig. 1b,c, respectively, $P < 0.001$). Exhaled CO was detected in all subjects.

Table 1 Demographic and spirometric data, tobacco smoking behaviour and Fagerström's test for nicotine dependence for subjects in the smoking cessation and control groups

Characteristics	Smoking cessation group (n = 33)	Control group (n = 33)	P-value
Demographic			
Male gender, %	55	36	0.14
Age, years, mean \pm SD	49 ± 12	52 ± 14	0.44
BMI, kg/m ² , mean \pm SD	26 ± 4	26 ± 4	0.43
Spirometric values			
FEV ₁ /FVC, %, mean \pm SD	78 ± 8	81 ± 4	0.27
FVC, L, mean \pm SD	3.5 ± 1.1	4.1 ± 0.8	0.67
FVC, % predicted, mean \pm SD	100 ± 17	102 ± 14	0.66
FEV ₁ , L, mean \pm SD	2.6 ± 0.9	3.4 ± 0.7	0.06
FEV ₁ , % predicted, mean \pm SD	94 ± 17	104 ± 13	<0.001
Tobacco smoking behaviour			
Years smoked, mean \pm SD	21 ± 8	—	
Pack-years index, mean \pm SD	44 ± 25	—	
Cigarettes smoked per day, mean \pm SD	20 ± 10	—	
Light smokers, %	49	—	
Moderate smokers, %	30	—	
Heavy smokers, %	21	—	
Fagerström's test, %			
Mild	21	—	
Moderate	76	—	
Severe	3	—	

Table 2 Demographic data, education, tobacco smoking behaviour, medication used to stop smoking and Fagerström's test for nicotine dependence for subjects in the smoking cessation and control groups

Characteristics	Smokers who were abstaining at 180 days (n = 9)	Smokers who were not abstaining (n = 24)
Demographic		
Male gender, %	67	50
Age, years, mean \pm SD	54 \pm 12	47 \pm 12
BMI, kg/m ² , mean \pm SD	24 \pm 4	26 \pm 4
Education, %		
Elementary	22	54
High school	11	33
University	67*	13
Tobacco smoking behaviour		
Years smoked, mean \pm SD	17 \pm 10	22 \pm 7
Pack-years index, mean \pm SD	20 \pm 9*	28 \pm 14
Cigarettes smoked per day, mean \pm SD	16 \pm 11	21 \pm 10
Light smokers, %	67	42
Moderate smokers, %	22	33
Heavy smokers, %	11	25
Medication used to stop smoking, %		
None	22	33
Antidepressant (bupropion)	11*	15
Nicotine patch	67	52
Fagerström's test, %		
Mild	45	17
Moderate	55	79
Severe	0	4

* $P < 0.05$ compared with smokers who were not abstaining.

Baseline dysfunction in mucociliary clearance was similar in smokers who were or were not abstaining at 180 days (median STT 4.4 min [interquartile range 4.1–5.0] and 7 min [2.2–8.4], respectively, $P = 0.34$). There was a significant decrease in STT in smokers from the 15th to the 180th day after cessation of smoking, as compared with baseline values (Fig. 2a, $P < 0.01$). There was also a reduction in STT on day 7 as compared with day 60 ($P < 0.01$). Exhaled CO and COHb were significantly lower 7 days after cessation of smoking, as compared with baseline (Fig. 2b,c, $P < 0.001$). Similar results were observed 15, 30, 60, 90, 120 and 180 days after cessation of smoking, as compared with baseline.

DISCUSSION

The present study demonstrated for the first time that smoking cessation, besides improving lung function and reducing the levels of exhaled CO and COHb, also improved nasal mucociliary clearance. The study also demonstrated that these effects were detectable from day 15 after cessation of smoking and were maintained for up to 6 months.

In this study, the quit rate at the end of 180 days was 27%. Notably, the individuals who abstained from smoking were those who were considered light smokers and had a higher level of education, which was similar to the findings from previous studies.^{14,29} Also, in line with previous findings, nicotine depen-

dence was related to the capacity to stop smoking.²⁸ Better adherence to the programme at 180 days was not correlated with greater use of bupropion therapy, as reported in a previous study.²⁸

Earlier studies have demonstrated that tobacco smoking damages the respiratory epithelium and impairs host respiratory defences, thereby contributing to increased susceptibility to infections.^{13,37} Mucociliary clearance is impaired in smokers compared with non-smokers, and the results from this study corroborate previous findings.²⁸ Swan *et al.* showed a consistent effect of smoking cessation on cytomorphological features, such as fewer columnar cells, less mucus and reduced epithelial cell metaplasia, in quitters as compared with non-quitters.²⁸ However, as far as we know, no previous study has focused on the effects of smoking cessation on nasal mucociliary clearance. The present study showed that impairment of nasal mucociliary clearance was reversible in smokers who enrolled in a smoking cessation programme. After cessation of smoking, nasal mucociliary clearance remained within the normal range from day 15 up to 6 months, suggesting that there was a significant improvement in epithelial function.

Mucociliary clearance is usually impaired by oxidative stress induced by exposure to cigarette smoke.³⁸ Oxidative stress induced by smoking disturbs cell differentiation, as well as repair and function of airway epithelial cells.³⁸ The gaseous phase of cigarette smoke contains high concentrations of free radicals ($>10^{17}$ molecules per puff),⁹ resulting in increased oxidative

Smoking cessation and mucociliary transport

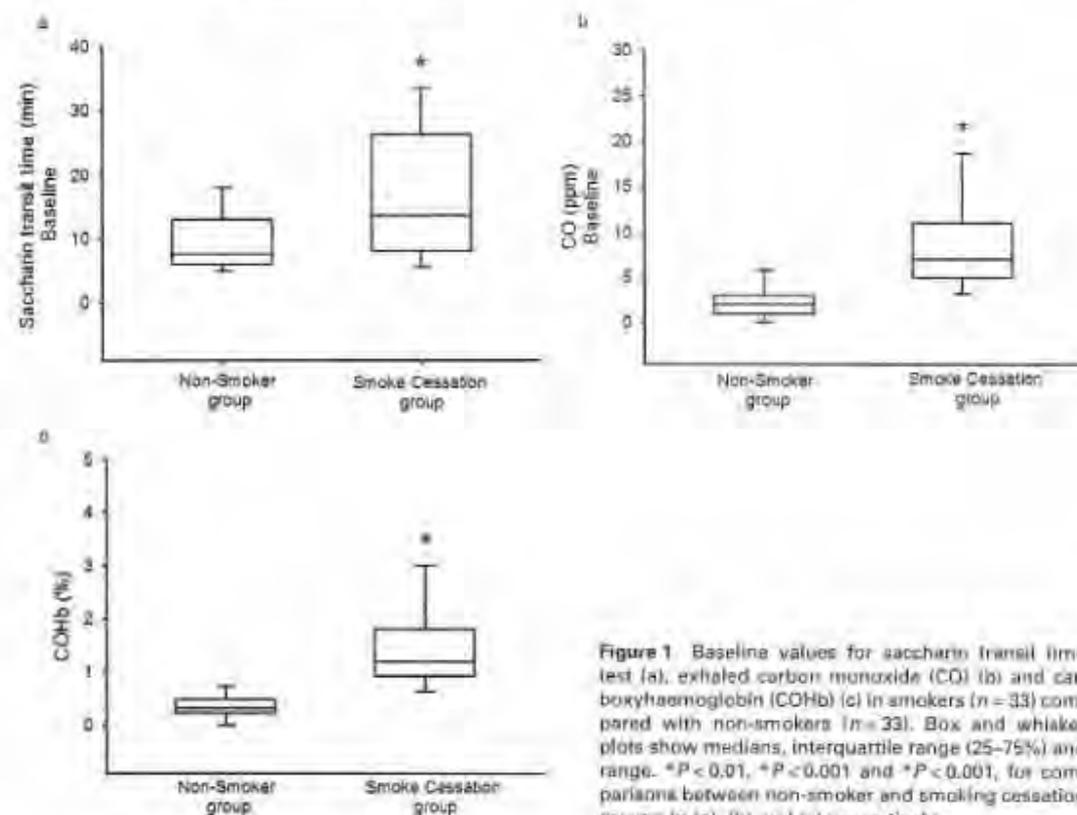


Figure 1 Baseline values for saccharin transit time test (a), exhaled carbon monoxide (CO) (b) and carboxyhaemoglobin (COHb) (c) in smokers ($n=33$) compared with non-smokers ($n=33$). Box and whisker plots show medians, interquartile range (25–75%) and range. * $P<0.01$, ** $P<0.001$ and *** $P<0.001$, for comparisons between non-smoker and smoking cessation groups in (a), (b) and (c) respectively.

stress with consequent changes in the function of the airway epithelium.³¹ CO is synthesized in many tissues of the body as a product of haem degradation by the enzyme haem oxygenase (HO).³² This enzyme is present in alveolar macrophages,³³ and is upregulated by oxidative stress,^{33,34} nitric oxide (NO)³⁵ and inflammatory cytokines.³⁶ CO is also produced by oxidative metabolism of exogenous hydrocarbons, including dichloromethane, other dihalomethanes and carbon tetrachloride, and by the haem oxidase catalysed photo-oxidation of organic compounds, as well as auto-oxidation of phenols and lipid peroxidation of cell membrane lipids.^{33,38} The CO that is produced diffuses into the blood, is transported by haemoglobin and excreted by the lungs.

Endogenous CO production is usually associated with oxidative stress.³³ Measurement of exhaled CO has been shown to be useful for the detection and management of smoking status during smoking cessation programmes. Measurement of CO concentrations in expired air may be useful during follow-up of smokers in the process of quitting, as well as allowing them to monitor their exhaled CO levels. Monitoring of exhaled CO levels may motivate individuals to abstain during smoking cessation programmes.³⁷ The present study showed that 7 days after cessation of smoking, exhaled CO and COHb levels declined to normal and

remained in this range during the 6-month study period. Previous studies have reported that exhaled CO levels may be increased by up to 7 ppm in inflammatory pulmonary diseases such as asthma, primary ciliary dyskinesia and bronchiectasis, demonstrating that exhaled CO levels may indicate the induction of HO-1 and oxidative stress.^{39,40} One explanation for the improvement in nasal mucociliary clearance after cessation of smoking is that the decline in exhaled CO may be partly mediated by a decrease in oxidative stress. Giuca *et al.* showed that exposure to cigarette smoke may alter the detoxification of hydrogen peroxide through decreased activity of the antioxidant enzyme, glutathione peroxidase, and this effect may be reduced after cessation of smoking.⁴¹ Favourable effects on oxidant-antioxidant imbalance after smoking cessation may possibly increase ciliary beat frequency and improve mucociliary clearance.

A limitation of this study was that attendance at meetings and evaluation was not continued for subjects, who despite repeated telephone contact, dropped out of the study. Most subjects who started smoking again consumed fewer cigarettes per day than before their attempt to quit. Therefore, the study was not able to show whether exhaled CO, COHb and STT in these individuals returned to baseline levels immediately after they started smoking again.

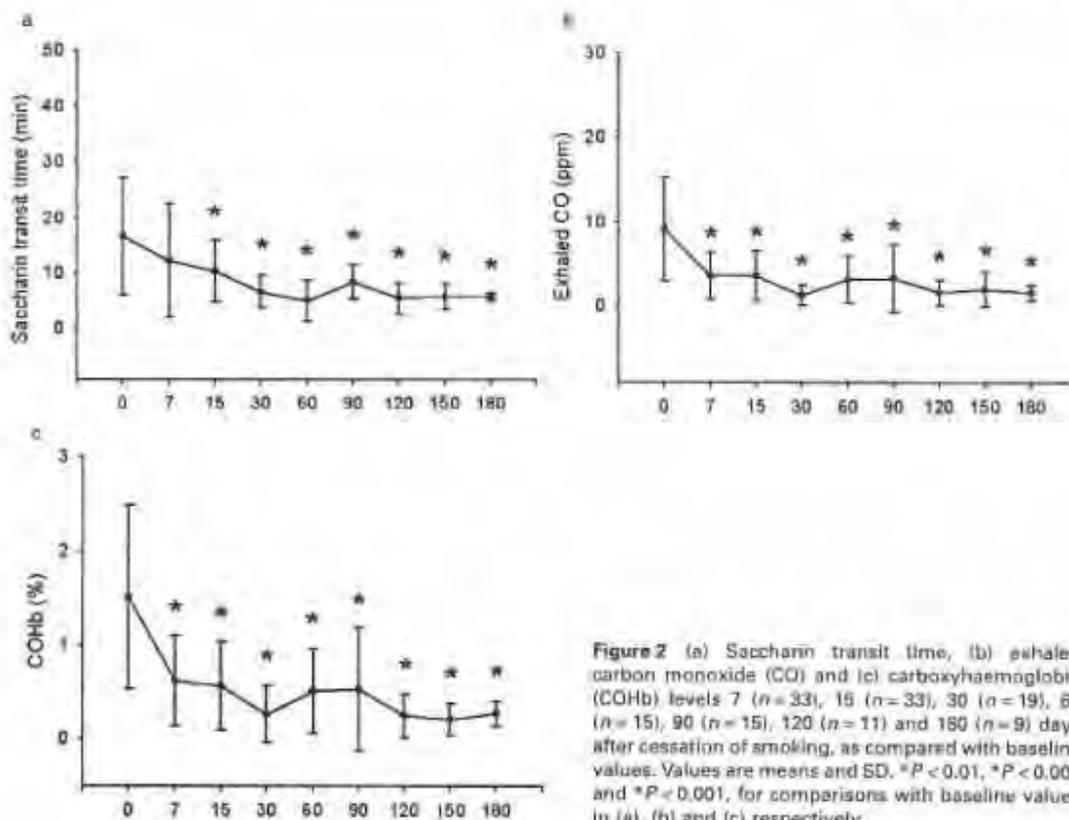


Figure 2 (a) Saccharin transit time, (b) exhaled carbon monoxide (CO) and (c) carboxyhaemoglobin (COHb) levels 7 ($n=33$), 15 ($n=33$), 30 ($n=19$), 60 ($n=15$), 90 ($n=15$), 120 ($n=11$) and 180 ($n=9$) days after cessation of smoking, as compared with baseline values. Values are means and SD. * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$ and *** $P < 0.001$, for comparisons with baseline values in (a), (b) and (c) respectively.

In conclusion, this study has shown that smoking cessation contributes to improved nasal mucociliary clearance in smokers from day 15 after cessation, and that these effects are maintained for up to 6 months.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the following Brazilian scientific agencies: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) and Programa Institucional da Pró-Reitoria de Extensão—PROEX/UNESP.

REFERENCES

- Mallers CD, Lincze D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006; **3**: e142.
- de Marco R, Accordini S, Marcon A et al. Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; **183**: 891–7.
- Houtmeyer E, Gosselink R, Gayán-Benítez G et al. Regulation of mucociliary clearance in health and disease. *Exp Nephrol.* 1999; **13**: 1177–88.
- Foster WM, Längenback EG, Bergoľsky EH. Disassociation in the mucociliary function of central and peripheral airways of asymptomatic smokers. *Am Rev Respir Dis.* 1985; **132**: 633–9.
- Almiral J, Guzmán CA, Balanzo X et al. Proportion of community-acquired pneumonia cases attributable to tobacco smoking. *Chest* 1999; **116**: 375–9.
- Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect.* 1985; **64**: 111–36.
- Brunnenmeier KD, Hoffmann J. Analytical studies on tobacco-specific ultrasmall particles in tobacco and tobacco smoke. *Chil Rev Toxicol.* 1991; **21**: 235–40.
- Rodgers W, Verman H, Denney PA et al. Sources of carbon monoxide (CO) in biological systems and applications of CO detection technologies. *Semin Perinatol.* 1994; **18**: 2–10.
- Verman H, Wong R, Sarosi GA et al. Simultaneous production of carbon monoxide and thiobarbituric acid reactive substances in rat tissue preparations by an iron-ascorbate system. *Can J Physiol Pharmacol.* 1993; **76**: 1057–65.
- Sleigh MA, Blake JR, Liron N. The propulsion of mucus by cilia. *Am Rev Respir Dis.* 1986; **133**: 726–41.
- Salah B, Dineh Nazz AJ, Fouillades JL et al. Nasal mucociliary transport in healthy subjects is slower when breathing dry air. *Eur Respir J.* 1988; **1**: 652–5.
- Godtfredsen NS, Heist C, Prescott E et al. Smoking reduction, smoking cessation, and mortality: a 16-year follow-up of 19 732 men and women from The Copenhagen Centre for Prospective Population Studies. *Am J Epidemiol.* 2002; **158**: 994–1001.
- Zhu S, Meicer T, Sun J et al. Smoking cessation with and without assistance: a population-based analysis. *Am J Prev Med.* 2009; **18**: 305–11.
- Fernández E, Schiaffino A, Borrell C et al. Social class, education, and smoking cessation: long-term follow-up of patients.

- treated at a smoking cessation unit. *Nicotine Tob. Res.* 2006; **8**: 29–36.
- 15 Middleton EI, Morice AH. Breath carbon monoxide as an indication of smoking habit. *Chest* 2000; **117**: 754–53.
 - 16 Guizidou C. Respiratory, cardiovascular and other physiological consequences of smoking cessation. *Curr. Med. Res. Opin.* 2009; **25**: 335–49.
 - 17 Fagerstrom ED, Heathcote TF, Kozlowski LT. Nicotine addiction and its assessment. *Ear Nose Throat J.* 1990; **69**: 763–5.
 - 18 Brasil Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer. *Abrandamento e Tratamento do Fumante. Consenso 2001*. Rio de Janeiro, 2001.
 - 19 Lee JS, Kim Y, Kim WN *et al.* Changes in smoking status among current male smokers and factors associated with smoking cessation success. *J. Prev. Med. Pub. Health* 2006; **39**: 229–45.
 - 20 American Thoracic Society. Standardization of spirometry: 1994 update. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; **152**: 1107–36.
 - 21 Duarte AA, Pereira CAC, Rodrigues SC. Validation of new Brazilian predicted values for forced spirometry in Caucasians and comparison with predicted values obtained using other reference equations. *J. Bras. Pneumol.* 2007; **33**: 327–35.
 - 22 Jarvis M, Belcher M, Veasey C *et al.* Low cost carbon monoxide monitors in smoking assessment. *Thorax* 1986; **41**: 666–7.
 - 23 Javors MA, Hatch JP, Lamb RJ. Cut-off levels for breath carbon monoxide as a marker for cigarette smoking. *Addiction* 2005; **100**: 159–67.
 - 24 Grandes G, Cortada J, Arrazola A *et al.* Predictors of long-term outcome of a smoking cessation programme in primary care. *Br. J. Gen. Pract.* 2003; **53**: 101–7.
 - 25 Zhou X, Nonnemaker J, Shrestha R *et al.* Attempts to quit smoking and relapse: factors associated with success or failure from the ATTENPT cohort study. *Addict. Behav.* 2009; **34**: 365–73.
 - 26 Dale LC, Glover ED, Sachs DP *et al.* Bupropion for smoking cessation: predictors of successful outcome. *Chest* 2001; **119**: 1357–64.
 - 27 Osifu T, Cay M, Akbulut A *et al.* The facilitating effect of cigarette smoke on the colonization of inhaled bacteria into the tracheal lumen in rats and the improving influence of supplementary vitamin E on this process. *Respirology* 1999; **4**: 245–8.
 - 28 Groenewegen KH, Westers EF. Bacterial infections in patients requiring admission for an acute exacerbation of COPD: a 4-year prospective study. *Respir. Med.* 2003; **97**: 770–7.
 - 29 Swan GF, Hoogjen IE, Roby T *et al.* Reversibility of airways injury over a 12-month period following smoking cessation. *Chest* 1982; **101**: 607–12.
 - 30 Costa MG, Hale KA, Niewoehner DE. Morphologic and morphometric effects of prolonged cigarette smoking on the small airways. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1980; **122**: 255–71.
 - 31 Slebos DJ, Byer SW, Choi AM. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide in pulmonary medicine. *Respir. Res.* 2003; **4**: 7.
 - 32 Oberstein L, Sylvester SL, Choi AM. Hemeoglobin provides protection against lethal endotoxaemia in rats: the role of heme oxygenase-1. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1993; **18**: 595–601.
 - 33 Fukushima T, Okinaga S, Sekizawa K *et al.* The role of carbon monoxide in lucigenin-dependent chemiluminescence of rat alveolar macrophages. *Eur. J. Pharmacol.* 1993; **209**: 103–7.
 - 34 Lambi SL, Alam I, Oberstein L *et al.* Induction of heme oxygenase-1 gene expression by lipopolysaccharide is mediated by AP-1 activation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1995; **13**: 387–96.
 - 35 Kim YM, Bergonia HA, Miller C *et al.* Loss and degradation of enzyme-bound heme induced by cellular nitric oxide synthesis. *J. Biol. Chem.* 1995; **270**: 5710–15.
 - 36 Cantoni L, Rosti C, Rizzanelli M *et al.* Interleukin-1 and tumour necrosis factor induce hepatic heme oxygenase. Feedback regulation by glucocorticoids. *Biochem. J.* 1991; **279**: 861–4.
 - 37 Stevens JL, Katayama DJ, Anders MW. Metabolism of dithioethanes to carbon monoxide. IV. Studies in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1980; **55**: 484–9.
 - 38 Zayasu K, Sekizawa K, Okinaga S *et al.* Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; **156**: 1140–3.
 - 39 Huysath I, Loukides S, Wadehouse T *et al.* Comparison of exhaled and nasal nitric oxide and exhaled carbon monoxide levels in bronchiectatic patients with and without primary ciliary dyskinesia. *Thorax* 2004; **59**: 66–72.
 - 40 Giuca MR, Gruggioli E, Metella MR *et al.* Effects of cigarette smoke on salivary superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity. *J. Biol. Regul. Humant. Agents* 2010; **24**: 358–66.