

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DISTÚRBIOS DA
COMUNICAÇÃO HUMANA**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS DISTÚRBIOS DO
EQUILÍBRIO, TABAGISMO E INDICADORES DE
GENOTOXICIDADE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Daniele Coronel Mena Barreto

**Santa Maria, RS, Brasil
2010**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS DISTÚRBIOS DO EQUILÍBRIO,
TABAGISMO E INDICADORES DE GENOTOXICIDADE**

por

Daniele Coronel Mena Barreto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Distúrbios da Comunicação Humana, Área de Concentração em Audiologia, Linha de Pesquisa em equilíbrio, da Universidade Federal de Santa Maria para obtenção do título de **Mestre em Distúrbios da Comunicação Humana**

Orientador: Prof. Dr. Aron Ferreira da Silveira

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Ivana Beatrice Manica da Cruz

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Distúrbios da Comunicação
Humana**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**Associação entre os distúrbios do equilíbrio, tabagismo e
indicadores de genotoxicidade**

elaborada por

Daniele Coronel Mena Barreto

como requisito parcial para obtenção do grau de

Mestre em Distúrbios da Comunicação Humana

COMISSÃO EXAMINADORA:

Aron Ferreira da Silveira, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Angela Garcia Rossi, Dr^a (UFSM)

Pricila Sleifer, Dr^a (UFRGS)

Santa Maria, 05 de março de 2010.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Célula com formação de um micronúcleo.....	25
Figura 2 –	Classificação visual sugerida por Collins et. al. (1995). Imagens de cometas (a partir de linfócitos), coradas com DAPI. Representam 0-4 utilizados para o escore visual.....	31
Figura 3 –	Cabine utilizada para a avaliação do equilíbrio.....	37
Figura 4 –	Cinto no qual é anexada a caneta laser.....	38
Figura 5 –	Teste de Organização Sensorial (TOS).....	39
Figura 6 –	Papel milimetrado localizado na parte superior da cabine e fixado a um suporte de ferro.....	39
Figura 7 –	Classificação do Dano ao DNA. Classe 0 representa células sem dano e classe 4 o mais alto dano.....	42
Figura 8 –	Representação do Dano ao DNA. Classe 0 representa células sem dano e classe 4 o mais alto dano.....	83
Figura 9 –	Classificação dos micronúcleos (MN), 1: célula sem MN; 2: célula com 1 MN; 3: célula com 3 ou mais MNs.....	83
Figura 10 –	Distribuição de percentil dos valores obtidos para os seis parâmetros (TOS) da posturografia dinâmica “ <i>Foam Laser</i> ”	86
Figura 11 –	Frequência de indivíduos com percentil abaixo de 25 que indica alterações em cada um dos seis parâmetros TOS da Posturografia Dinâmica “ <i>Foam Laser</i> ”.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação entre as médias dos parâmetros da Posturografia Dinâmica <i>Foam-Laser</i> (FLP) entre o gênero masculino e feminino de adultos jovens participantes do estudo.....	64
Tabela 2 – Comparação entre as médias dos parâmetros da Posturografia Dinâmica <i>Foam-Laser</i> (FLP) entre tabagistas e não tabagistas adultos jovens participantes do estudo.....	65
Tabela 3 – Comparação das características do comportamento tabagista entre homens e mulheres adultos jovens.....	85
Tabela 4 – Comparação entre indicadores de genotoxicidade.....	85

LISTA DE REDUÇÕES

SNC	–	Sistema Nervoso Central
TOS	–	Teste de Organização Sensorial
RVO	–	Reflexo Vestíbulo-ocular
RVE	–	Reflexo Vestíbulo-espinal
OMS	–	Organização Mundial de Saúde
INCA	–	Instituto Nacional de Câncer
MN	–	Micronúcleo
FDA	–	Food and Drugs Administration
CDC	–	Centro de Controle de Doenças
EEG	–	Eletroencefalografia
FLP	–	Posturografia Dinâmica “ <i>Foam-laser</i> ”
PD	–	Posturografia Dinâmica
T	–	Tabagistas
NT	–	Não Tabagistas
SOM	–	Sistema Somatossensorial
VEST	–	Sistema Vestibular
VIS	–	Sistema Visual
ATL	–	Audiometria Tonal Liminar
Hz	–	Hertz
LRF	–	Limiar de Reconhecimento de Fala
IPRF	–	Índice Percentual do Reconhecimento de Fala
SAF	–	Serviço de Atendimento Fonoaudiológico
SCE	–	Testes de Troca de Cromátides Irmãs
DNA	–	Ácido Desoxirribonucléico
GYTS	–	Global Youth Tobacco Survey

- nAChR – Receptores Colinérgicos
- SCGE – Single – cell Gel Eletrophoresis
- EEN – Estados Emocionais Negativos
- WHO – World Health Organization
- dBNA – Decibel Nível de Audição
- dB – Decibel
- RPM – Rotações por Minuto
- UFSM – Universidade Federal de Santa Maria
- * – Significância Estatística

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A	– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	95
ANEXO B	– Protocolo de Anamnese.....	97
ANEXO C	– Protocolo de Avaliação Audiológica.....	99
ANEXO D	– Protocolo de Posturografia Dinâmica.....	100
ANEXO E	– Protocolo de Análise do Teste Cometa.....	101
ANEXO F	– Protocolo de Análise do Teste Micronúcleo.....	102
ANEXO G	– Termo de Confidencialidade dos Dados da Pesquisa.....	103
ANEXO H	– Questionário do Projeto “Nutrigenética e Tabagismo: Estudos <i>In Vivo</i> e <i>Ex Vivo</i> da Dieta e Atividade Física na Modulação dos Efeitos Pró-Oxidantes do Fumo”.....	104
ANEXO I	– Carta de Aprovação.....	114

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	04
LISTA DE TABELAS.....	05
LISTA DE REDUÇÕES.....	06
LISTA DE ANEXOS.....	08
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Equilíbrio.....	17
2.2 Tabagismo.....	21
2.3 Genotoxicidade do tabaco e principais testes para a sua avaliação.....	24
2.4 Teste análise dos micronúcleos.....	24
2.5 Teste ensaio do cometa.....	28
2.6 Tabagismo, genotoxicidade e equilíbrio.....	32
3. OBJETIVOS.....	33
3.1 Objetivo geral.....	33
3.2 Objetivos específicos.....	33
4. MATERIAL E MÉTODO.....	34
4.1 Delineamento.....	34
4.2 Local e data das avaliações.....	34
4.3 Considerações éticas.....	34
4.4 Amostra.....	35
4.5 Metodologia.....	35
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
7. ARTIGO DE PESQUISA I.....	53

8. ARTIGO DE PESQUISA II.....	73
9. ANEXOS.....	94

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, os quais são os meus alicerces, meu porto seguro. Neles me inspiro, me espelho e me conforto. Meus exemplos de vida, lutadores, guerreiros e vencedores!

Tenho imenso orgulho em aqui homenagear meus pais, *Emersson Noronha Mena Barreto e Laura Elizabeth Coronel Mena Barreto*, meus grandes amigos e incentivadores!

Obrigada por estarem presentes em todos os momentos da minha vida, sempre dispostos, apoiando e acreditando. Exímios profissionais e grandes pais de família: são minha inspiração e meu ideal de vida.

Pais maravilhosos e incomparáveis, obrigada por constituírem essa família linda e amada da qual eu faço parte.

AMO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS

À *Deus*, por tornar possível tantos momentos bons e felizes. Obrigada pela linda família e verdadeiros amigos que Tu puseste em minha vida!

Ao *Prof. Dr. Aron Ferreira da Silveira*, por todos os ensinamentos e incentivo durante a execução deste trabalho. Obrigada por estar sempre disposto a resolver os problemas e ajudar a superar as dificuldades.

À *Profª Drª Ivana Beatrice Manica da Cruz*, que foi incansável e indispensável na elaboração desta dissertação. Profissional digna de admiração e respeito.

À *Equipe do Laboratório de Biogenômica* da Universidade Federal de Santa Maria, pela paciência com que me foram atribuídos os ensinamentos necessários para a realização desta pesquisa. Vocês foram de grande importância!

À *Profª Drª Angela Garcia Rossi*, pela disponibilidade e apoio para a realização deste estudo.

À *Profª Drª Pricila Sleifer*, parte integrante da banca examinadora, por suas correções e sugestões que contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao meu irmão *Luciano Coronel Mena Barreto*, minha cunhada *Nádia Cristiane Goulart Mena Barreto* e meu sobrinho e afilhado *Matheus Goulart Mena Barreto*, por estarem sempre presentes na minha vida, pelo amor, carinho e atenção que me dedicam e por tornarem meus dias mais felizes apenas pelo fato de existirem. Amo vocês!

À minha amiga e colega *Fgª. Andressa Boer Fronza*, pela parceria pessoal e profissional. A tua presença e ajuda tornou mais leve a realização deste trabalho, sem dizer que foi muito mais “diver” trabalhar na tua companhia! Obrigada por tudo mana!

À grande amiga *Fgª. Bruna Machado Correa* que desde o início da jornada acadêmica esteve ao meu lado, obrigada pela imensa amizade e momentos maravilhosos que passamos juntas. Tu vais ficar marcada na minha memória e no meu coração para sempre!

À sempre amiga *Fgª. Larissa Lautenschlager*, por ter um coração enorme e estar sempre disposta a ajudar. Obrigada por compartilhar a tua casa comigo, a qual muitas vezes foi o meu conforto quando o meu coração apertava de saudade. Agradeço pela amizade sempre!

À minha amiga *Fg^a. Michele Paula Moro*, pelas longas conversas e palavras de carinho que me auxiliaram nos momentos difíceis. Obrigada pela convivência que nos tornou cada vez mais próximas e verdadeiras amigas.

Às amigas e fonoaudiólogas *Bruna Roggia* e *Tassiana Kamisnki*, pela agradável convivência compartilhada tanto profissionalmente quanto pessoalmente.

Às amigas e fonoaudiólogas *Luciane Pacheco* e *Flávia Almeida*, por serem grandes profissionais e por me mostrarem que é possível! Obrigada Manas!

À amiga *Angela Moro*, por me acolher na amizade e por compartilhar momentos alegres e inesquecíveis.

Às minhas eternas amigas *Aline Dutra*, *Aline Pês*, *Ana Paula Blanco*, *Adriana Dutra*, *Gisele Dutra* e *Lilliane Guimarães*, por fazerem parte da minha história e pelos laços de amizade verdadeira que nem o tempo e a distância consegue enfraquecer.

À todos aqueles que de alguma forma colaboraram com a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

*“O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis
e pessoas incomparáveis”.*

(Fernando Pessoa)

1. INTRODUÇÃO

A avaliação otoneurológica consiste em um conjunto de procedimentos que permite a exploração semiológica dos sistemas auditivo e vestibular e de suas relações com o sistema nervoso central (SNC). A anamnese, a avaliação otorrinolaringológica, a investigação audiológica e a equilibrimetria (ou vestibulometria) são os seus componentes. Para complementar essa avaliação, utiliza-se a Posturografia Dinâmica “*Foam-Laser*”, que consiste em uma técnica de baixo custo e confiável para a realização do Teste De Organização Sensorial (TOS), sendo essa importante para quantificar os distúrbios do equilíbrio corporal e também para avaliar a eficácia da reabilitação vestibular se utilizada para sanar esse distúrbio (CASTAGNO 1994a).

Para a manutenção do equilíbrio, se faz necessária uma integração dos sistemas sensoriais que incluem a visão, a propriocepção e o sistema vestibular, cada um deles contribui com uma função específica, formando nossa orientação espacial (GANANÇA & CAOVILLA, 1998). Segundo Pedalini & Bittar (1999), o sistema vestibular é formado por diversos componentes sensoriais e são eles que auxiliam na manutenção do equilíbrio em todas as atividades diárias, tais como: caminhar, pular e andar de bicicleta.

O equilíbrio corporal é de fundamental importância para que o indivíduo mantenha sua qualidade de vida e consiga exercer suas atividades diárias, em todos os aspectos, tanto nas atividades profissionais, como nas sociais e emocionais (POPPER, 2001).

Por ser de vital importância para a saúde do indivíduo o equilíbrio é o tema de estudo. Otoneurologia é o campo da otorrinolaringologia e da otologia, que estuda o equilíbrio corporal, a audição e suas relações com o Sistema Nervoso Central (SNC) e integra o circuito multidisciplinar de investigação. Vertigem, outras tonturas, desequilíbrio, náuseas, quedas, hipoacusias e zumbido são alguns dos principais sintomas decorrentes de comprometimento agudo ou crônico dos sistemas auditivos e vestibular (GANANÇA; CAOVILLA & GANANÇA, 2002).

Entre as possibilidades de atuação que hoje são oferecidas ao Fonoaudiólogo, estão os exames otoneurológicos, com os quais esses profissionais podem colaborar nos diagnósticos das disfunções da orelha interna e promover aplicações de técnicas de reabilitação em pacientes que sofrem afecções do órgão vestibulo-coclear. Médicos, Fonoaudiólogos e outros especialistas em distúrbios da comunicação humana são os profissionais diretamente envolvidos na identificação e resolução desses problemas (HERDMAN *et al.*, 2000).

A etiologia das tonturas pode estar relacionada a diversas causas vestibulares ou não, tais como: doenças metabólicas, disfunções vasculares, alterações cervicais, doenças neurológicas, uso de medicamentos, entre outras. Isso tudo associado ao envelhecimento do organismo, caracterizam a natureza multifatorial da tontura (GANANÇA *et al.*, 1997).

O equilíbrio é uma função sensório-motora que tem como objetivo estabilizar o campo visual e manter a postura ereta. A posição do corpo, o movimento dos olhos e a percepção espacial são controlados pelo sistema vestibular, com o objetivo de manter o equilíbrio corporal (PEDALINI & BITTAR, 1999).

Dada a sua relevância para a manutenção da saúde e qualidade de vida dos indivíduos, fatores ambientais e genéticos que podem interferir no equilíbrio são importantes de serem investigados: esse é o caso do tabagismo.

Esse trabalho verificará os sinais e sintomas clínicos dos distúrbios do equilíbrio e também fará uma análise, através de estudos de biologia molecular, do sistema vestibular dos indivíduos usuários de tabaco, tem como objetivo correlacionar o tabagismo com as eventuais alterações vestibulares e analisar as possíveis alterações do equilíbrio relacionadas ao uso do tabaco através de análises funcionais e danos celulares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Para a melhor compreensão do estudo aqui apresentado, a revisão de literatura foi dividida em capítulos, para facilitar a abordagem do tema.

2.1 Equilíbrio

Segundo Ferreira (2009), equilíbrio é a manutenção de um corpo na posição normal, sem oscilações ou desvios. É a igualdade entre forças opostas e também estabilidade mental e emocional.

O sistema nervoso central (SNC) integrado com os sistemas vestibular, visual e proprioceptivo recebe as informações do meio externo fazendo com que o corpo mantenha-se em equilíbrio, executando movimentos em relação ao corpo e ao espaço (VIEIRA, 2006).

O sistema vestibular é uma das ferramentas mais importantes do sistema nervoso no controle da postura, além dele, os impulsos captados no órgão da visão e nos receptores proprioceptivos, juntamente com uma resposta muscular reflexa, também são responsáveis pela manutenção do equilíbrio e do controle postural (HERDMAN, 2002).

As alterações do equilíbrio podem ocorrer devido a alguma falha em um ou vários desses sistemas, levando o indivíduo a se queixar de desequilíbrio corporal. Essas queixas são extremamente frequentes, tendo como principal sintoma a tontura. Podendo essa ser relatada como única queixa ou estar acompanhada por outros sinais e sintomas.

Handa *et al.*, (2005) afirmam que a tontura é um dos sintomas mais comuns no mundo, atingindo tanto o gênero feminino, quanto o masculino e tendo maior prevalência em adultos, especialmente idosos. A vertigem é o tipo mais frequente de tontura, caracterizada como sensação de desorientação espacial do tipo rotatório.

Para Lourenço (2005), as tonturas podem ter inúmeras causas, sendo que muitas doenças ou distúrbios funcionais em várias partes do corpo humano podem afetar o sistema do equilíbrio corporal.

Acompanhando o quadro de tontura encontra-se uma série de sintomas associados, como: zumbido, hipoacusia, cefaléia, depressão, distúrbios de memória, náuseas, ansiedade, vômitos, sudorese, entre outros, o que acarreta consequências significativas à qualidade de vida da população (GANANÇA & CAOVIOLA, 2001).

As alterações do equilíbrio corporal, clinicamente caracterizadas como: tontura, vertigem, desequilíbrio e queda, estão entre as queixas mais comuns da população idosa, estima-se que a prevalência de queixas de equilíbrio na população acima dos sessenta e cinco anos chegue a 85% (BITTAR *et al.*, 2000) estando associada a várias etiologias, e podendo se manifestar como desequilíbrio, desvio de marcha, instabilidade, náuseas e quedas frequentes. Essas alterações do controle postural estão associadas, na população idosa, a um maior risco de queda e suas conseqüentes seqüelas, que apresentam elevada morbidade (GANANÇA *et al.*, 2004).

A etiologia das tonturas pode estar relacionada a diversas causas relacionadas de origem vestibular ou não, como disfunções cérebro-vasculares, doenças metabólicas e vasculares, alterações cervicais, doenças neurológicas, hipotensão postural, uso de medicamentos, presbivertigem, entre outras. Essas múltiplas causas associadas ao envelhecimento do sistema vestibular e dos demais sistemas do organismo caracterizam a natureza multifatorial da tontura (GANANÇA *et al.*, 2004).

Katz (2003) relata que os sistemas auditivo e vestibular têm algumas características comuns, mas se diferem quanto a outras. Os dois sistemas têm origens comuns na escala filogenética, sendo que o sistema vestibular precede o sistema auditivo. Os sistemas vestibulares diferem entre si com relação à natureza dos estímulos extrínsecos que se originam de fontes distantes. O sistema vestibular é um sistema proprioceptivo que responde a estímulos que envolvem o corpo e/ou se encontram dentro dele. É sensível ao movimento no espaço e às mudanças posturais, contribuindo desse modo para a orientação espacial e a coordenação motora.

Castagno (1994a) e Bento (1999) complementam referindo que o sistema vestibular consiste no labirinto, vias e núcleos vestibulares, que se inter-relacionam

no tronco cerebral com outros núcleos e vias neuronais. No labirinto, os três canais semicirculares, situados em planos de 90° entre si, respondem às acelerações angulares da cabeça, enquanto que o sáculo e utrículo respondem, principalmente, à aceleração linear. Os estímulos do labirinto são conduzidos pelos nervos vestibulares superiores e inferiores até os diversos núcleos vestibulares, situados no tronco cerebral. A percepção espacial adequada necessita, ainda, da integração dos centros oculares e proprioceptivos, o que ocorre na substância reticular e no cerebelo. Projeções neurais também passam pela substância reticular para atingir os centros corticais e no sistema oculomotor, resultando no nistagmo. Qualquer alteração nesse intrincado sistema de orientação espacial pode levar a sintomas vertiginosos.

Ganança *et al.*, (1997) afirmam que na ocorrência de um conflito na integração das informações sensoriais, ocorre uma disfunção do equilíbrio corporal, que pode ser traduzida como tontura ou vertigens, podendo atingir indivíduos em qualquer faixa etária, principalmente, os adultos e idosos, culminando em eventos de queda.

Para Zhong & Jin (1991) as causas de tontura são de difícil diagnóstico, contudo, hoje existem vários exames complementares disponíveis, tais como: exames audiométricos, eletrofisiológicos, laboratoriais, etc. Porém, apenas esses não avaliam adequadamente a função vestibular. Os exames que desempenham bem esse papel são as provas eletrônístagmográficas e as posturográficas.

A melhora do paciente que possui alterações vestibulares é obtida em função das adaptações neurais multifatoriais, substituições sensoriais, recuperação funcional dos reflexos vestibulo-ocular (RVO) e vestibulo-espinal (RVE), pelo condicionamento global, pela alteração do estilo de vida e pelo efeito psicológico positivo com a recuperação da segurança física e psíquica. O sucesso do tratamento necessita da cooperação do paciente e de sua participação ativa, o que leva a resultados mais satisfatórios e melhoria na qualidade de vida (BITTAR & PEDALINI, 1999).

Existem três formas de tratamento para as disfunções labirínticas: a medicamentosa, a cirúrgica e a reabilitação vestibular. Outros autores acrescentam, ainda, as mudanças dos hábitos e vícios inadequados (tabagismo, alcoolismo, erros alimentares) e, quando necessário, acompanhamento psicológico. Outros ressaltam

que a reabilitação vestibular é o melhor tratamento terapêutico e que pode ser usado com ou sem auxílio de medicamentos (JAUHAR, 2001).

Ganança, Caovilla & Ganança (2002), afirmam que se houver uma lesão em algum dos três sistemas responsáveis pelo equilíbrio, ocorrerá uma discrepância nas informações ocasionando um conflito, podendo surgir sintomas de desequilíbrio corporal, como a tontura, que é definida como uma sensação errônea de movimento do corpo ou do ambiente. Os mesmos autores afirmam que há vários tipos de tontura, podendo ser subdivididas em tontura rotatória, conhecida como vertigem, e em tontura não-rotatória caracterizada por instabilidade, flutuação, impressão de queda, desvio de marcha, sensação de cabeça oca ou pesada, entre outros.

A reabilitação vestibular é um tratamento terapêutico, cujo objetivo é a promoção da melhora do equilíbrio global, da qualidade de vida e a restauração da orientação espacial para o mais próximo do fisiológico, por meio de exercícios que estimulam os fenômenos de adaptação envolvendo a habituação, compensação e a substituição vestibular (GANANÇA *et al.*, 2000).

Na adaptação vestibular o sistema vestibular aprende a receber e processar informações, mesmo que inadequadas ou incompletas, adequando-as aos estímulos apresentados. A habituação vestibular é a correção ou a diminuição das respostas inadequadas, quando o sistema vestibular é estimulado e o organismo passa a responder de forma adequada. A substituição vestibular é a priorização central da percepção sensorial que almeja substituir as informações relacionadas ao equilíbrio corporal que estejam ausentes ou conflitantes (GANANÇA *et al.*, 1997; GANANÇA, PERRACINI & GANANÇA, 2002).

A compensação vestibular pode ser definida como o mecanismo de recuperação funcional do equilíbrio corporal e consiste numa série de eventos que regularizam a simetria das respostas vestibulares no Tronco Encefálico (GANANÇA & CAOVIALLA, 2001).

Alterações metabólicas há muito tempo são aceitas como um dos fatores responsáveis por diversos distúrbios do equilíbrio originários no sistema vestibular. Nos últimos trinta anos, pesquisadores têm dedicado seu trabalho de investigação ao esclarecimento das eventuais manifestações clínicas desses distúrbios e sua documentação. Dentre os distúrbios metabólicos aceitos, atualmente, como responsáveis por alterações labirínticas, estão as disfunções metabólicas da glicose (diabetes, hipoglicemia reativa e hiperinsulinemia) e da glândula tireóide, problemas

relacionados ao metabolismo lipídico e às variações hormonais femininas (BITTAR *et al.*, 2003).

Devido à variabilidade etiológica é imprescindível reconhecer e caracterizar a disfunção vestibular por meio de testes de exploração semiológica dos sintomas auditivo e vestibulares. Assim, o sucesso da terapêutica otoneurológica depende da precisão do diagnóstico sindrômico, topográfico e etiológico. A maximização das informações com o uso dos computadores aprimorou o diagnóstico topográfico das lesões auditivas e vestibulares, e esse progresso do diagnóstico otoneurológico tem resultado na otimização dos recursos no controle da vertigem aguda e crônica de origem vestibular (BENTO *et al.*, 1999)

O indivíduo tem a percepção de que está em equilíbrio, mas o que o deixa equilibrado, na realidade é um conjunto de mecanismos que se processam de modo totalmente inconsciente. Não importa o que o indivíduo esteja fazendo, não precisa ter conscientemente qualquer preocupação em manter o seu equilíbrio, já que esse se estabelece automaticamente (GANANÇA *et al.*, 1999).

Como foi anteriormente comentado, existem causas genéticas e ambientais que podem afetar o equilíbrio do indivíduo ao longo de sua vida. Por esse motivo a investigação dessas causas é de grande relevância científica para a saúde. Esse é o caso dos efeitos do tabagismo sobre o equilíbrio.

2.2 Tabagismo

O consumo do tabaco existe há vários séculos, no entanto, apenas recentemente os seus malefícios começaram a ser determinados e conhecidos. Os efeitos prejudiciais verificam-se nos fumadores ativos e nas pessoas que estão expostas ao fumo, denominadas fumadores passivos.

O tabaco é uma erva utilizada via processo inalatório, processo esse utilizado há mais de trezentos anos. A planta ganhou o nome de *Nicotiana* após Jean Nicot, um embaixador francês, residente em Portugal, que em 1560, exaltou em público a virtude do tabaco como agente curativo. A espécie *Nicotiana tabacum* é hoje a principal fonte do tabaco fumado e a única espécie cultivada nos Estados Unidos e no Brasil. A folha do tabaco contém uma complexa mistura de mais de quatro mil

componentes químicos: hidrocarbonetos, fenóis, ácidos graxos, isopropenos, ésteres e minerais inorgânicos (ARAÚJO *et al.*, 2009).

Ainda para esses autores, o tabagismo é um comportamento complexo que recebe influências de estímulos ambientais, hábitos pessoais, condicionamentos psicossociais e das ações biológicas da nicotina. Esses estímulos podem ser de vários tipos: os provenientes da publicidade, da facilidade de aquisição da droga pelos baixos preços dos cigarros e aceitação social, exemplo dos pais e de líderes fumantes, tendência pessoal a outras adições, à depressão, além da hereditariedade. Esses fatores constituem o modelo que explica o comportamento aditivo (ARAÚJO *et al.*, 2009).

O fumo é importante causa de perda da saúde. Está associado ao desenvolvimento de doenças respiratórias, cardiovasculares e neoplasias. A mortalidade geral é duas vezes maior nos fumantes quando comparados aos não-fumantes. Constitui-se um dos fatores de risco maiores para doença coronariana (FUCHS, 1992). Juntamente com as neoplasias, as doenças cardiovasculares representam a maior causa de morte no Rio Grande do Sul e em grandes cidades do Brasil (LOLIO *et al.*, 1993).

Apesar de ser importante fator de risco, cuja remoção repercute significativamente na redução da morbidade e mortalidade, os dados de prevalência de tabagismo na população geral brasileira são esparsos. Nos poucos estudos populacionais, as estimativas oscilam entre 32 e 42% (POHLMANN *et al.*, 1991). É maior entre os homens, da terceira à sexta década de vida e posição socioeconômica inferior. A associação inversa do tabagismo com nível socioeconômico também é observada internacionalmente (CENTERS FOR DISEASE CONTROL, 1993).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2004 afirmou que o tabagismo deve ser considerado uma pandemia, já que, atualmente, morrem, no mundo, cinco milhões de pessoas, por ano, em consequência das doenças provocadas pelo tabaco, o que corresponde a aproximadamente seis mortes a cada segundo.

Por esse motivo, a OMS junto ao Centro de Controle de Doenças (CDC, 1994) promoveram uma pesquisa mundial (*Global Youth Tobacco Survey – GYTS*), tendo como objetivo acompanhar as prevalências do tabagismo entre os jovens e monitorizar as tendências. Dados coletados de 1999 à 2002 em jovens escolares da faixa etária de 13-15 anos, de vários países, revelaram prevalências de fumo de

15% entre os jovens do sexo masculino e 6,6% entre os do sexo feminino. A definição de tabagismo utilizada nessa pesquisa foi "ter fumado durante um ou mais dias nos últimos trinta dias".

No Brasil, segundo as estatísticas do Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2001), um terço da população adulta fumava, sendo 16,7 milhões de homens e 11,2 milhões de mulheres e estimam-se duzentos mil óbitos anuais relacionados ao fumo.

Como a nicotina que é o componente psicoativo do tabaco é extremamente aditiva, ela produz uma dependência comparável a dos opiáceos e a da cocaína, o que se pode comprovar quando se observa a grande dificuldade que os fumadores têm para deixar de fumar. A dependência não é só física da nicotina, mas é também psicológica dos cigarros (LANCASTER & STEAD, 2004). A dependência física caracteriza-se pela síndrome de privação com a vontade imperiosa de fumar, pela irritabilidade, dificuldade de concentração, alteração do sono, tonturas e cefaléias, entre outros. A dependência psicológica advém do reforço positivo que os rituais de fumar conferem: prazer de fumar, gestão de *stress* e regulação do peso e do apetite.

Estima-se que cerca de 75% dos adolescentes experimentam o tabagismo, mas em torno de 60% dos experimentadores evoluem para o uso diário e desses 20% à 30% tornam-se dependentes. Esse último grupo de fumantes não consegue abandonar o fumo, ainda que queiram. Entre eles, um número considerável de pessoas bem informadas, inclusive de profissionais ligados à área da saúde (DOLL *et al.*, 2004).

Para Mico *et al.*, (2000) a nicotina exerce seus efeitos no cérebro através de receptores colinérgicos (nAChR) amplamente distribuídos no sistema nervoso central (SNC), já que apresenta estrutura molecular semelhante a da acetilcolina. A administração continuada de nicotina altera a estrutura do SNC, aumentando a densidade de receptores nicotínicos entre 100 e 300%, modificando a fisiologia do SNC. Isso pode ser comprovado pela detecção de alterações na eletroencefalografia (EEG), no metabolismo cerebral, pela mensuração de diferentes níveis séricos de neuormônios. Esses efeitos, diferentes em fumantes e não fumantes, também são verificados em fumantes antes e após o ato de fumar.

Como a maioria das drogas de poder aditivo, a nicotina produz de modo significativo, também sensações desagradáveis. Produz aversão, é um potente agente ansiogênico e ocasiona efeitos desagradáveis como náuseas, tosse e tontura quando em suas primeiras experiências (TUCCI *et al.*, 2003).

Entretanto, existe um número pequeno de estudos associando tabagismo, o equilíbrio corporal e danos no DNA celular, e uma vez, que o tabaco aumenta o estresse oxidativo, que por sua vez interfere na função de diversos órgãos e sistemas corporais essa é uma questão que merece ser explorada. Sendo assim, é de grande importância investigar o quanto o tabagismo está associado à disfunção do equilíbrio e investigar também a influência na associação das diferenças do equilíbrio com o próprio estresse oxidativo.

2.3 Genotoxicidade do tabaco e principais testes para a sua avaliação

A genotoxicidade é uma área da genética que estuda os processos que alteram a estrutura físico-química da molécula desoxirribonucléico (DNA), estrutura físico-química, que é considerada a base da vida. O processo que leva a alteração do DNA é denominado mutagênese. Os agentes químicos ou físicos que mudam a seqüência do DNA são “tóxicos” para o gene sendo conhecidos como agentes genotóxicos. Já a palavra mutação pode ser definida como sendo qualquer alteração permanente no DNA, que leva a uma alteração herdável da função gênica (SILVA *et al.*, 2003). É importante salientar que mutações podem ocorrer em qualquer célula, tanto em células de linhagem germinativa como em célula somática. Dois testes para avaliar a genotoxicidade de uma dada substância ou o efeito da exposição a fatores genotóxicos são amplamente utilizados: o teste Análise do Micronúcleo e o Ensaio do Cometa (BOMBAIL *et al.*, 2001)

2.4 Teste análise dos micronúcleos

Micronúcleo (MN) é um núcleo acessório, originado a partir de fragmentos de cromossomo ou de cromossomos inteiros que não são incluídos no núcleo principal durante a mitose. MNs surgem por alterações genéticas espontâneas ou são induzidos por agentes genotóxicos. A análise dos micronúcleos tem sido utilizada como uma ferramenta importante de biomonitoramento de populações. Estudos

demonstram que consumidores de fumo e álcool, assim como grupos expostos a determinados agentes em função de sua ocupação ou estilo de vida apresentam um elevado número de MNs nas células bucais esfoliadas (CARRARD *et al.*, 2007).

Ramirez & Saldanha (2002) afirmam que o MN é um núcleo adicional e separado do núcleo principal de uma célula, formado por cromossomos ou fragmento de cromossomos que não são incluídos no núcleo principal durante a mitose. Sua formação se deve a alterações estruturais cromossômicas espontâneas ou decorrentes de fatores ambientais ou, ainda, a falhas no fuso mitótico, sendo, portanto, excluído do novo núcleo formado na telófase.

MNs são cromossomos inteiros ou parciais que não foram incorporados dentro do núcleo da célula filha durante a divisão celular e que aparecem como uma pequena estrutura arredondada e escura, idêntica em aparência ao núcleo celular. Do mesmo modo, podem ocorrer anomalias celulares, formadas quando determinada quantidade de material fica levemente atrasada na mitose fazendo com que o núcleo resultante não seja oval, mas apresente uma saliência de cromatina (BOMBAIL *et al.*, 2001).



Micronúcleo

FIGURA1. Célula com formação de um micronúcleo

Fonte: Tolbert, Shy & Allen, (1992)

O teste do MN tem sido amplamente usado para medir genotoxicidade tanto *in vitro* quanto *in vivo*. O teste *in vivo* é especialmente relevante porque permite obter maiores informações sobre as condições experimentais, tais como: o metabolismo, a farmacocinética e os processos de reparo do DNA. É usado primeiro para avaliar a habilidade da substância teste para induzir danos cromossômicos

estruturais ou numéricos, ambos associados com o aparecimento e/ou progressão de tumores (KRISHNA & HAYASHI, 2000).

O *Food and Drugs Administration* (FDA, 2005), nos EUA, define MN como partícula microscopicamente detectável contendo DNA nuclear, podendo conter parte ou todo um cromossomo.

O teste do MN foi originalmente desenvolvido por Schmid (1975), explica ele que o princípio do teste baseia-se no fato de que, durante o processo de divisão celular, principalmente na anáfase, as cromátides e os fragmentos cromossômicos acêntricos não são transportados pelas fibras do fuso para os pólos opostos, enquanto que os fragmentos com centrômero o são. Após a telófase, os cromossomos sem dano são incluídos no núcleo de cada uma das células filhas. No entanto, alguns elementos, normalmente muito pequenos, não são incluídos nos núcleos formados e permanecem no citoplasma, constituindo as estruturas caracterizadas como micronúcleos.

Dentre as alterações eritrocíticas nucleares, a ocorrência de MNs serve como o primeiro passo no estudo de qualquer substância mutagênica. O teste do MN é um teste rápido e sensível para detectar alterações cromossômicas estruturais e numéricas (HEDDLE *et al.*, 1991), também é um ensaio citogenético, comumente, usado em vários sistemas biológicos para o monitoramento de genotoxicidade ambiental (MERSCH & BEAUVAIS, 1997).

Os eventos que levam à formação do MN podem ser induzidos pelo estresse oxidativo, exposição a agentes clastogênicos ou aneugênicos, defeitos genéticos nos *checkpoints* do ciclo celular e/ou nos genes de reparo do DNA e também pela deficiência de nutrientes requeridos como co-fatores no metabolismo do DNA e na maquinaria da segregação cromossômica (BONASSI *et al.*, 2007).

Defeitos nas funções da apoptose também contribuem para a formação de MN, como foi mostrado no trabalho de Decodier, Cundari & Krisch-Volders (2005), onde eles verificaram que a inibição da apoptose, através da inibição da atividade das caspases 8 e 9, aumentaram a frequência de células micronucleadas.

Os MNs podem ser únicos ou múltiplos e segundo Tolbert; Shy & Allen (1992) devem preencher os seguintes critérios: 1. Estrutura da cromatina similar e intensidade de cor semelhante ou mais fraca do que a do núcleo principal; 2. Borda evidente, sugerindo membrana nuclear; 3. Ter formato arredondado; 4. Localização intracitoplasmática; 5. Diâmetro menor do que 1/5 do núcleo principal.

A presença de MNs em células esfoliadas da mucosa bucal reflete os eventos genotóxicos que ocorreram em células que estavam na camada basal do epitélio 1-3 semanas antes da obtenção dos esfregaços. A detecção de MNs em citologia esfoliativa deve ser interpretada como resultante da exposição recente a carcinógenos ou o reparo frente a erros espontâneos durante a duplicação do DNA. Existe uma grande variação interindividual (de até dezessete vezes) na ocorrência de MNs. Isso pode ser reflexo de fatores genéticos ou da ação de agentes genotóxicos não identificados (BLOCHING *et al.*, 2000).

A utilização da citologia esfoliativa a partir do raspado de mucosas é uma técnica barata e simples quando comparada à cultura de células, o que permite o estudo em âmbito populacional (AYYAD *et al.*, 2006). O emprego do teste de MNs em células esfoliadas pode ser utilizado como dosímetro interno de danos em tecidos específicos. O epitélio bucal está em constante contato com agentes ambientais (genotóxicos), portanto é um sítio alvo importante para substâncias tóxicas inaladas ou ingeridas (KARAHALIL *et al.*, 1999).

As células descamadas da mucosa bucal podem ser obtidas através de raspagem com o auxílio de espátulas de madeira ou de plástico. Titenko - Holland *et al.*, (1996) recomendam que se faça um bochecho prévio às coletas no sentido de se remover bactérias ou debris celulares que podem comprometer as leituras. A solução utilizada para estoque das células deve ser a mais inerte possível como, por exemplo, a solução salina 0,9% ou uma solução tampão em pH neutro (7,0). Esse é um método de coleta já validado, que permite a obtenção de um alto número de células viáveis de forma não invasiva e bem tolerada pelo paciente (CHEN *et al.*, 2006).

Os estudos mostram uma diversidade considerável quanto ao número de células avaliadas, que vão de quinhentas (DESAI *et al.*, 1996; BLOCHING *et al.*, 2000) até mais de mil células por lâmina (GATTAS *et al.*, 2001). Isso pode ser uma das fontes dos resultados controversos, pois em indivíduos saudáveis não expostos a agentes genotóxicos, os MNs aparecem na proporção de aproximadamente 1-3 por mil células nucleadas. Diante dessa constatação, seria importante que houvesse uma padronização do número de células a ser avaliado, permitindo que a comparação entre os estudos fosse realizada (BELIEN *et al.*, 1995).

O teste dos MNs nas células descamadas do epitélio bucal é de grande aplicabilidade para o acompanhamento de pacientes de risco para câncer bucal e de

análise do impacto de determinados agentes genotóxicos, como o fumo e o álcool na mucosa bucal. Além disso, o teste dos MNs parece ser uma ferramenta apropriada para identificar novos agentes ambientais tóxicos, informando a respeito da possibilidade de os mesmos serem genotóxicos (CARRARD *et al.*, 2007).

Para Heddle *et al.*, (1991) apesar da formação de MNs de fragmentos cromossômicos acêntricos ser de fácil e amplo entendimento, algumas dúvidas ainda permanecem em relação à origem do MN. Existem, de fato, quatro mecanismos reconhecidos, segundo esses autores, que podem dar origem ao MN e a estruturas semelhantes: a) perda mitótica de fragmentos acêntricos; b) uma variedade de consequências mecânicas de quebras e trocas cromossômicas; c) perda mitótica de cromossomos inteiros; d) apoptose, que é uma forma de destruição nuclear em que o núcleo se desintegra e fragmentos nucleares são formados.

Fenech *et al.*, (1999) apontam que a utilização da técnica dos MNs em células esfoliadas de diferentes tecidos é um campo promissor, mas chamam a atenção para a necessidade da padronização dos protocolos, da comparação dos resultados de diferentes laboratórios e do estudo desse fenômeno nos diferentes tecidos, a fim de que sejam encontradas as fontes da variabilidade dos resultados. Como o período de renovação do epitélio bucal é de aproximadamente vinte e cinco dias, a formação de MNs deve ser considerada um dano citogenético agudo e local (SUHAS *et al.*, 2004).

2.5 Teste ensaio do cometa

O Ensaio Cometa, também conhecido por SCGE (*Single-Cell Gel Eletrophoresis*), é uma técnica capaz de detectar dano ao DNA em células individualizadas (FERRARO, 2004), através da medição da migração em gel do DNA dos nucleóides depois de uma corrida eletroforética (SINGH *et al.*, 1988). O nome cometa refere-se à formação de uma longa cauda com os fragmentos de DNA deixados após a passagem da corrente elétrica (BOMBAIL *et al.*, 2001).

Em 1988, SINGH *et al.*, desenvolveram o ensaio cometa sob condições alcalinas (pH>13), o que intensificou a eficiência da técnica. Essa alteração

possibilitou a detecção de quebras de fita simples, quebras de fita dupla, sítio alcali-lábeis, sítios abásicos, excisão de sítios incompletos de reparo e ligações cruzadas (TICE *et al.*, 2000).

O ensaio do cometa tem sido proposto para estudos de toxicogenética devido às suas vantagens e peculiaridades quando comparado a outros testes que detectam substâncias genotóxicas, sendo uma ferramenta fundamental de investigação em estudos de reparo de DNA, biomonitoramento ambiental e teste de genotoxicidade (ROSS *et al.*, 1995).

O ensaio consiste nas etapas de preparação da suspensão celular, incubação em uma solução de lise, etapa de desespiralização do DNA e uma corrida eletroforética. O papel da lise no ensaio cometa é o de remover os conteúdos celulares, com exceção do material nuclear. O DNA permanece bem condensado devido à presença de uma pequena quantidade de proteínas não histônicas. Porém, quando colocado na solução de eletroforese, com pH maior que treze, a espiralização do DNA começa a relaxar a partir dos pontos de quebra da fita, permitindo, dessa maneira, que os mesmos sejam revelados pela eletroforese na seqüência do teste (YENDLE *et al.*, 1997).

A eletroforese é uma técnica utilizada para separar macromoléculas, tais como: ácidos nucléicos ou proteínas com base no tamanho, na carga elétrica e em outras características físicas. Tal propriedade atribui um papel fundamental na separação dos fragmentos de DNA durante a execução do teste cometa. O uso desse método possibilita a migração das moléculas através da extensão do gel, impulsionadas por uma corrente elétrica. Nas extremidades dele estão os eletrodos que fornecem a força dirigida. Em alguns casos, o formato das moléculas também influencia na facilidade de migração pelo gel (MATSUMOTO *et al.*, 2006).

Qualquer que seja o meio a ser utilizado, todo o processamento das células deve obrigatoriamente ser executado sem que danos adicionais ao DNA possam ocorrer. Dessa forma, as células devem ser manipuladas ao abrigo da luz, uma vez que esta causa danos ao DNA (FERRARO, 2004).

O teste do cometa é utilizado para detectar lesões genômicas que, após serem processadas, podem resultar em mutação. Diferente das mutações, as lesões detectadas pelo teste do cometa são passíveis de correção. Uma vez que danos no DNA são frequentes em células e tecidos específicos, uma metodologia como o teste do cometa, que permite a detecção de danos e seu reparo em uma única

célula, e conseqüentemente, em determinada subpopulação celular, é de extrema relevância para a avaliação de compostos genotóxicos (TICE, 1995).

O teste do cometa consiste na lise celular, relaxamento do DNA e eletroforese, sendo possível observar após coloração, os fragmentos de DNA provindos da quebra causada pelo agente xenobiótico, que, ao serem submetidos à eletroforese “correm” formando uma cauda (BÜCKER, CARVALHO & ALVES-GOMES, 2006)

Deve-se ter em mente que não existe célula sem dano no DNA, visto que o próprio metabolismo celular pode gerar em torno de mil lesões diárias no DNA/célula. O que se faz, rotineiramente, é modular as condições técnicas (tempo de relaxamento e eletroforese) para que um mínimo de DNA migre da cabeça para a cauda do cometa nos controles negativos (TICE, 1995).

Para Lemos *et al.*, (2000) o parâmetro de análise que o teste ensaio do cometa fornece é a quebra de fita simples de DNA, e os segmentos gerados migram do núcleo, de acordo com o dano ocorrido na molécula. O uso desse teste tem sido proposto devido sua alta sensibilidade quando comparado com outros testes de genotoxicidade.

A principal vantagem do ensaio de cometa é sua alta sensibilidade a vários tipos de danos de DNA (BUCKER *et al.*, 2006), sendo considerado em alguns casos mais sensível à ação de agentes genotóxicos do que ao teste de micronúcleo (MATSUMOTO *et al.*, 2006; BUCKER *et al.*, 2006), além de outras vantagens, como: mensuração de danos em células individuais e o baixo número de células necessário para a realização do teste.

O grau de dano no DNA que o teste considera pode ser descrito de várias maneiras, como a quantidade de DNA na cauda, o comprimento da cauda e a porcentagem de células com diferentes classes de danos (TICE, 1995).

Collins *et al.*, (1995) publicaram um método de pontuação visual ("visual scoring") através do qual se pontua cada cometa, classificando-os em graus que vão de zero à quatro (Fig. 2). Dessa forma, se cem cometas são classificados em uma lâmina, o seu "score" total ficará entre zero e quatrocentas unidades arbitrárias.

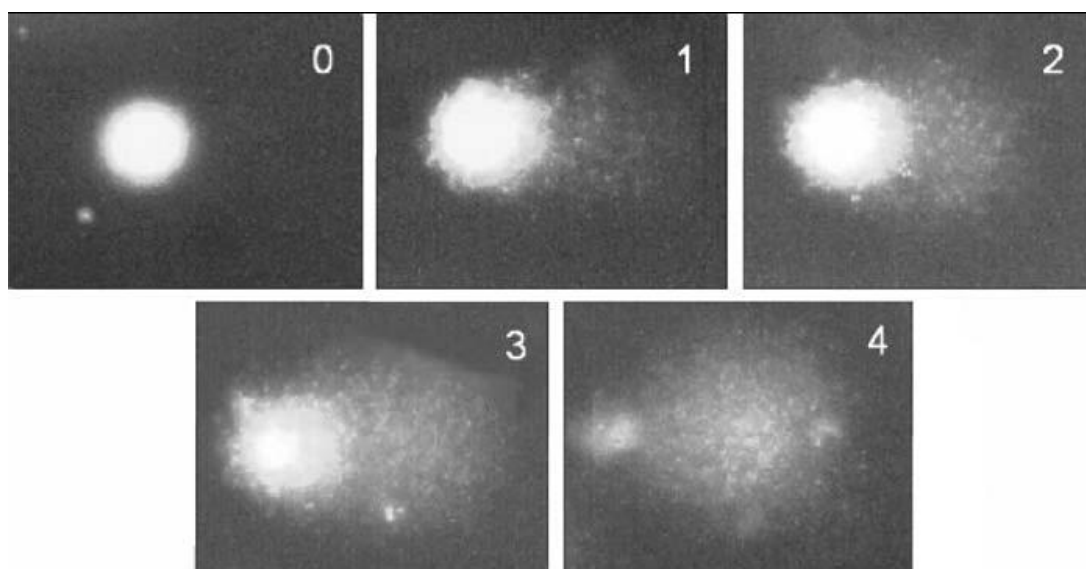


FIGURA 2: Classificação visual sugerida por Collins *et al.* (1995). Imagens de cometas (a partir de linfócitos), coradas com DAPI. Representam 0-4 utilizados para o escore visual.

Collins *et al.*, (2008) enfatizam que o DNA não migra em fragmentos como na eletroforese convencional, onde a distância percorrida é inversamente proporcional ao tamanho do fragmento. Destaca ainda que as distâncias entre as quebras originadas e detectadas pelo ensaio estão na ordem de 109 Da, muito além da faixa detectável pela eletroforese convencional. Nessa, o comprimento dos fragmentos está na ordem de 1 mm enquanto que a cauda de um cometa mede um centésimo desse valor. Outro fato importante destacado por esses autores é o de que mesmo após o tratamento com a solução de lise e a solução salina da eletroforese, o núcleo ou nucleóide tem uma estrutura. Essa estrutura mantém os nucleossomos; dessa maneira a figura da cauda do cometa seria um relaxamento da superespiralização do DNA originadas pelos danos à estrutura do DNA.

Como limitação do teste, vale destacar que embora existam muitos trabalhos realizados com esse ensaio, e seus protocolos estejam bem estabelecidos em estudos com humanos e muitos mamíferos, a ausência de uma padronização dos mesmos torna difícil o cruzamento dos dados encontrados em diferentes espécies ou mesmo dentro de uma mesma espécie (FRENZILLI, NIGRO, LYONS & 2008), entretanto, para comparações em um mesmo estudo ele é plenamente utilizável.

2.6 Tabagismo, genotoxicidade e equilíbrio

Apesar dos estudos sobre o tema serem muito escassos, investigações analisando a possível associação entre tabagismo e equilíbrio postural são relatadas na literatura, como é o caso do estudo realizado que sugere terem os fumantes uma maior instabilidade corporal do que os não fumantes (IKI *et al.*, 1994). Outro estudo recente também mostrou que idosos fumantes submetidos a treinamento para melhoria no equilíbrio postural não apresentavam os mesmos benefícios da intervenção quando comparados a idosos não fumantes (BISHOP *et al.*, 2009).

Adicionalmente, investigação conduzida por Barreto *et al.*, (2009) analisou a prevalência da indicação de alterações no equilíbrio dinâmico em adultos jovens e sua possível associação com variáveis do estilo de vida, saúde e estados emocionais negativos (EEN) (uma vez que essas condições podem intervir nos resultados obtidos). Para tanto, foi realizado um estudo epidemiológico transversal, não-probabilístico, em adultos jovens (18-32 anos) de uma comunidade universitária com 751 indivíduos, 22.45 ± 3.32 anos. O Teste de Unterberg foi aplicado para averiguar indicação de alteração no equilíbrio dinâmico. Indivíduos com equilíbrio dinâmico alterado (EDA) foram então comparados com os sem alteração (controle). O estudo mostrou que da amostra, 642 (83.6%) desviaram menos que 45° enquanto que 109 (14.2%) apresentaram um desvio maior que 45° sendo então considerados o grupo EDA. O grupo EDA apresentou maior prevalência de tabagismo, abuso/dependência de álcool, hipertensão arterial sistêmica e de EEN.

Com base nos resultados obtidos, investigações complementares seriam importantes para entender que possíveis alterações cito fisiológicas o tabaco poderia induzir nesses adultos jovens, influenciando precocemente o seu equilíbrio.

Sabendo-se que o tabagismo aumenta um processo conhecido com estresse oxidativo, e essa é uma das principais causas da genotoxicidade, e que investigações sugerem grande aumento no estresse oxidativo em doenças neurodegenerativas que afetam o equilíbrio corporal como a doença de Huntington, Parkinson e esclerose lateral amiotrófica, este tema merece maior destaque (DE LUCA *et al.*, 2008).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar qual a influência do uso do tabaco sobre os possíveis distúrbios do equilíbrio e indicadores de genotoxicidade, em indivíduos tabagistas selecionados de uma amostra previamente obtida, contribuindo para o seu melhor entendimento e favorecendo o planejamento de condutas mais eficazes para esses indivíduos.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar os indicadores do equilíbrio em indivíduos usuários de tabaco através da Posturografia Dinâmica “*foam-laser*”;
- Verificar a presença de genotoxicidade através do Teste Análise dos Micronúcleos e Teste Ensaio do Cometa;
- Analisar a associação entre indicadores do equilíbrio e genotoxicidade provocados por estresse oxidativo em usuários de tabaco.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Delineamento

Foi realizado um estudo caso-controle preliminar, quantitativo, transversal e contemporâneo que comparou os indicadores do equilíbrio em tabagistas e não tabagistas e dessas variáveis taxas de dano no DNA foi conduzido.

Optou-se por realizar em uma amostra desses indivíduos a avaliação do sistema vestibular e dois testes para avaliar danos celulares no DNA (Teste Cometa e Teste do Micronúcleo), tendo em vista que o organismo é sistêmico e caso comprovado o dano celular, esse poderia estar ocorrendo em qualquer estrutura do sistema vestibular.

4.2 Local e data das avaliações

Esse estudo foi realizado no Serviço de Atendimento Fonoaudiológico (SAF) da Universidade Federal de Santa Maria e no Laboratório de Biogenômica do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde na Universidade Federal de Santa Maria. As avaliações foram efetuadas no período compreendido entre março e junho de 2009.

4.3 Considerações éticas

Foram avaliados somente aqueles indivíduos que concordaram com a realização dos procedimentos necessários para a execução da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A), após terem recebido explicações sobre o objetivo e metodologia do estudo proposto.

Esse estudo é um subprojeto do Projeto “Nutrigenética e Tabagismo: Estudos *In Vivo* e *Ex Vivo* da Dieta e Atividade Física na Modulação dos Efeitos Pró-Oxidantes do Fumo” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria com o número 0146.0.243.000-07.

4.4 Amostra

A partir da população do Projeto “Nutrigenética e Tabagismo: Estudos *In Vivo* e *Ex Vivo* da Dieta e Atividade Física na Modulação dos Efeitos Pró-Oxidantes do Fumo”, composta por adultos jovens (entre dezoito e trinta e dois anos), foi selecionado um grupo de indivíduos tabagistas, denominado **Grupo T**. Para critérios de comparação e sistematização do grupo estudado, foi selecionado um grupo controle de indivíduos não tabagistas, denominado **Grupo NT**.

O tamanho da subamostra investigada foi estimado considerando um erro amostral de 5%, e um nível de confiança de 95%, estando esse entre 56 a 69 sujeitos. Cada grupo foi composto por trinta sujeitos. Os grupos foram corrigidos por gênero, idade, perfil sócio econômico cultural e estilo de vida.

Qualquer indivíduo que, por algum motivo, não aceitou participar da pesquisa, não cumpriu os critérios de seleção supracitados ou apresentou algum fator que interferiu no teste, como alterações neurológicas e/ou incapacidade de cumprir as tarefas propostas foi excluído da amostra.

4.5 Metodologia

Os indivíduos foram convidados para participar dessa pesquisa através de telefonemas e/ou e-mail. Depois de informados a respeito dos objetivos do estudo e das avaliações que ganhariam se aceitassem participar do estudo, eram agendadas as avaliações.

Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A), a resposta do questionário (ANEXO D) e subsequente divisão dos grupos (T e NT), os indivíduos participantes foram submetidos à realização de:

- *Anamnese* (ANEXO B): contendo perguntas fechadas de identificação e relativas aos sintomas do equilíbrio, antecedentes pessoais e familiares, quantidade diária e tempo de exposição ao fumo.
- *Avaliação audiológica básica*: foi realizada após a inspeção visual do meato acústico externo, a pesquisa dos limiares auditivos através da audiometria tonal liminar (ATL) por via aérea nas frequências de 250 a 8000 Hz, foram ainda submetidos à logaudiometria, com a pesquisa do Limiar de reconhecimento de fala (LRF) e do Índice percentual do reconhecimento de fala (IPRF), além da execução da imitânciometria, através da realização de timpanometria e pesquisa dos reflexos acústicos contralaterais, os quais foram pesquisados nas frequências de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz.

Para a execução da imitânciometria foi utilizado um analisador de orelha média INTERACOUSTIC A27, fone TDH-39 e coxim MX-41, tom-sonda de 220 Hz e 70 dBNA. A calibração do aparelho foi realizada segundo a norma ISO 389-1991.

Os dados dessa pesquisa foram obtidos em uma cabine tratada acusticamente, as avaliações realizadas em um audiômetro digital de dois canais de marca Fonix, modelo FA-12, tipo I e fones auriculares tipo TDH-39P de marca Telephonics.

Os participantes da pesquisa que apresentaram alterações em qualquer um dos exames audiológicos foram encaminhados para avaliação com médico otorrinolaringologista, com o objetivo de verificar qualquer afecção de orelhas, nariz e/ou garganta.

Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO C)

- *Avaliação do equilíbrio*: foi realizada através da Posturografia Dinâmica “*Foam-Laser*”, proposta por Castagno (1994a).

A Posturografia Dinâmica “*Foam-Laser*” é uma das formas de avaliação do equilíbrio e consiste em uma cabine de dois metros de altura, confeccionada com

um suporte de ferro desmontável que inclina 20°, envolta por um tecido listrado, com listras claras e escuras de dez centímetros de espessura (Figura 3) e uma almofada de espuma de cinquenta centímetros por cinquenta centímetros, dez centímetros de espessura e densidade média. Sobre a cabine foi fixado um papel milimetrado através de um suporte de ferro.



FIGURA 3 – Cabine utilizada para a avaliação do equilíbrio

Para a realização do exame um cinto (Figura 4) foi adaptado na cintura do paciente (confeccionado de espuma e com um velcro na extremidade posterior), no qual foi inserida uma caneta a laser, de forma que essa caneta encontrava-se atrás do corpo do paciente em direção ao papel milimetrado (Figura 6). Na hora da avaliação o paciente estava em pé, descalço e com os braços estendidos ao longo do corpo.

A Posturografia Dinâmica “*Foam-Laser*” é um teste que mede as oscilações corporais através do “Teste de Organização Sensorial” (TOS) (Figura 5). O TOS é composto por seis etapas:



FIGURA 4 – Cinto no qual é anexada a caneta laser.

TOS I → o paciente mantém os olhos abertos, olhando à frente, sob uma superfície fixa e estável durante vinte segundos;

TOS II → o paciente mantém os olhos fechados, sob uma superfície fixa e estável durante vinte segundos;

TOS III → o paciente mantém os olhos abertos, sob uma superfície fixa e estável e a cabine se movimenta lentamente para frente e para trás durante vinte segundos;

TOS IV → o paciente mantém os olhos abertos, olhando à frente, sob uma espuma de 10 cm de espessura e densidade média durante vinte segundos;

TOS V → o paciente mantém os olhos fechados, sob uma espuma de dez centímetros de espessura e densidade média durante vinte segundos;

TOS VI → o paciente mantém os olhos abertos, sob uma espuma de dez centímetros de espessura e densidade média e a cabine se movimenta lentamente para frente e para trás durante vinte segundos;

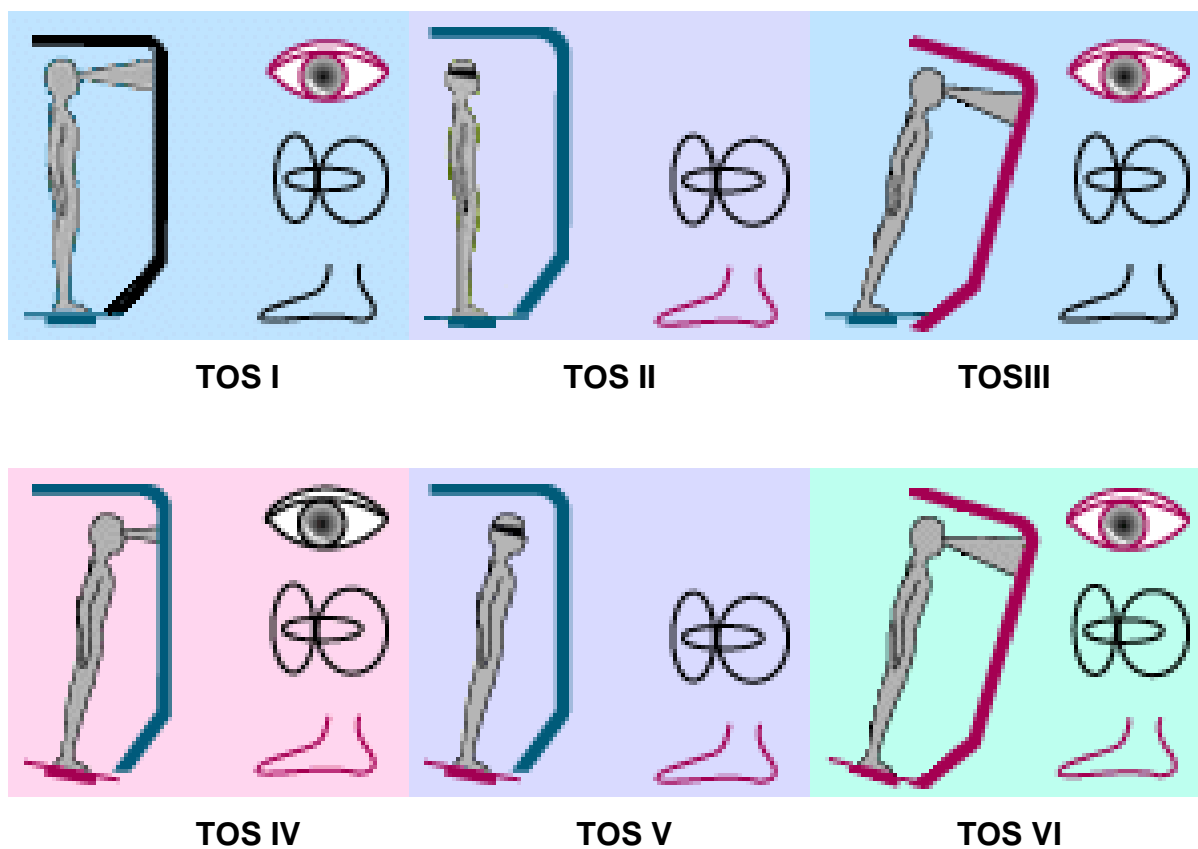


FIGURA 5 – Teste De Organização Sensorial (TOS)

No decorrer desses vinte segundos, o examinador observa o desvio corporal ântero-posterior do paciente. Esse desvio é anotado e através de um programa de computador é calculado o ângulo das oscilações.

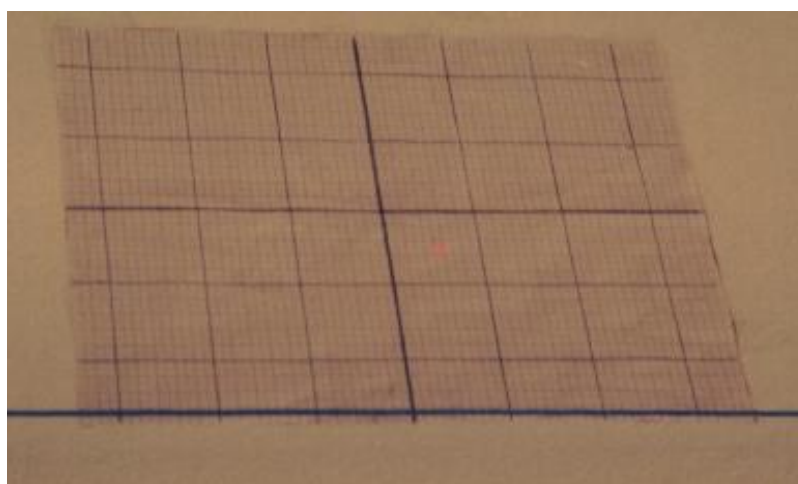


FIGURA 6 – Papel milimetrado localizado na parte superior da cabine e fixado a um suporte de ferro.

Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO D)

- *Coleta de Amostra Sanguínea:* foi realizada por um farmacêutico, para posterior aplicação dos testes e averiguação dos possíveis danos no DNA, através da Técnica do Teste do Ensaio do Cometa.

Para a coleta sanguínea, o paciente permanecia sentado em uma cadeira e o braço era escolhido. Para a punção o braço era apoiado sobre uma mesa, posicionado em linha reta do ombro ao punho, sem o cotovelo estar dobrado e a palma da mão voltada para cima. A farmacêutica selecionava o local escolhido para venipunção e realizava a anti-sepsia da região utilizando algodão hidrófilo e álcool etílico volume 70%. Em seguida, garroteava o braço do voluntário fazendo uso de um garrote de borracha, sem que o fluxo arterial fosse interrompido. O tempo do garrote no braço do paciente não excedeu a um minuto, o que acarretaria um edema, e foi retirado após o término da venipunção. No ato da venipunção foram utilizadas seringas hipodérmicas sem agulha de 3 e 5ml da BD Plastipak® estéril (apirrogênio - atóxico, esterilizado a óxido de etileno) e agulhas hipodérmicas BD PrecisionGlide® 22 e 23G1 (0,70x25 e 0,60x25, respectivamente, apirrogênio - atóxico, esterilizado a óxido de etileno, parede fina bisel trifacetado). Os lacres da seringa e agulha foram retirados na frente do voluntário. A farmacêutica realizou a punção e em seguida desconectou a agulha e transferiu imediatamente o sangue para tubo com anticoagulante de EDTA da Vacuette® de 2ml (K3E K3EDTA de tampa roxa e aro branco) e homogeneizou o sangue por inversão. O voluntário recebeu bandagem no local onde foi realizada a punção. Os tubos com amostra sanguínea foram revestidos com papel alumínio para evitar dano adicional ao DNA da amostra pela exposição à luz. Agulha e seringa foram descartadas em recipiente próprio para materiais perfurocortantes e infecto-contaminantes.

O *Teste do Ensaio do Cometa* foi realizado de acordo com o método proposto por Singh *et al.*, (1988) e modificado por Collins *et al.*, (1995) exceto pelo uso de enzimas de restrição e pelo método de coloração. A descrição da técnica é misturar 5 µL da amostra (sangue total ou leucócitos) com 90 µL de 0,75% Low Melting Point Agarose em um eppendorf. Adicionar a solução em uma lâmina pré-coberta com 1% agarose normal, adicionar a lamínula e deixar na geladeira por cinco minutos. Depois retirar cuidadosamente a lamínula e colocar a lâmina em uma cuba com

solução de lise (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, 1% Triton X-100 e 10% DMSO, pH 10.00) por um dia a 4°C. Retirar as lâminas da solução de lise e lavá-las com água destilada. Em seguida, colocá-las em uma cuba horizontal contendo solução de eletroforese (1 mM EDTA e 300 mM NaOH, pH > 13). Deixar as lâminas por vinte minutos em repouso para permitir o desenovelamento do DNA, e então realizar a eletroforese por vinte minutos a vinte e cinco volts e trezentos microamperes. Após, colocar as lâminas em uma cuba com solução neutralizadora (0,4 M Tris-Base, pH 7,5) por sete minutos, lavar três vezes com água destilada e deixar secar até o outro dia em temperatura ambiente. Reidratar as lâminas por cinco minutos e colocá-las em uma cuba contendo solução fixadora (15% Ácido Tricloroacético, 5% Glicerol e 5% Sulfato de Zinco) por dez minutos, lavar três vezes e deixar secar a temperatura ambiente. Reidratar as lâminas por cinco minutos e colocá-las em uma cuba contendo solução corante por vinte e cinco minutos a trinta e sete graus centígrados. A solução corante foi preparada na seguinte ordem: misturar 34 ml da Solução B (0,2% Nitrato de Amônio, 0,2% Nitrato de Prata, 0,5% Ácido Tungstosilícico e 0,15% Formaldeído) com 66 ml da Solução A (5% Carbonato de Sódio). Depois da coloração, lavar as lâminas por três vezes em água destilada. A coloração deve ser interrompida colocando as lâminas em solução de Ácido Acético 1%. Após, deixar as lâminas secarem a temperatura ambiente. Cem células são contadas para cada amostra (cinquenta por lâmina).

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico binocular da marca Olympus modelo CX40. As cinco categorias usadas para classificação do Cometa são aquelas propostas por García (2004) e mostradas na Figura 7.

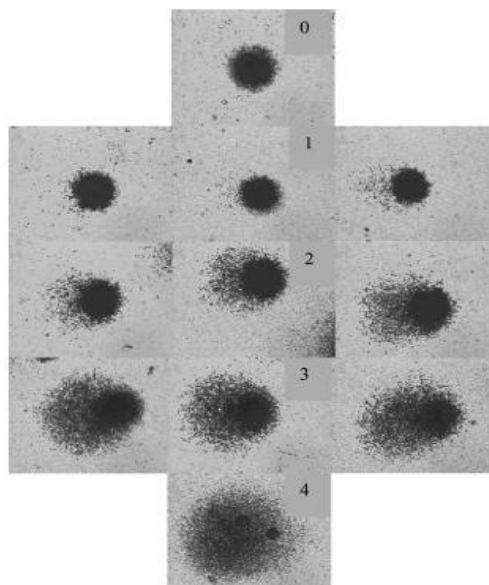


FIGURA 7. Classificação do Dano ao DNA. Classe 0 representa células sem dano e classe 4 o mais alto dano.

Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO E)

- *Coleta de amostra de células epiteliais descamadas da mucosa oral:* Coletadas para realização do teste Análise dos Micronúcleos, teste que avalia danos no DNA celular.

Para coleta de amostra de células epiteliais, foi solicitado que o voluntário mordiscasse levemente as bochechas para soltura das células e em seguida realizasse raspagem com uma espátula de madeira nas duas bochechas. A espátula contendo material celular foi colocada pelo voluntário em um tubo de ensaio cônico, contendo de 3 a 5 ml de Solução Fisiológica 0,9% NaCl gelada.

Em seguida, os tubos de ensaio foram centrifugados por dez minutos a mil RPM. Para lavagem das células, a solução fisiológica foi trocada, cuidando para que não fossem retiradas as células contidas no fundo do tubo de ensaio. A solução foi homogeneizada com as células utilizando pipeta Pasteur e centrifugadas novamente. O procedimento de lavagem das células/centrifugação foi repetido duas vezes. Em seguida, foi acrescido 1ml de solução fisiológica, homogeneizado e distribuído em duas lâminas (500 μ L em cada). As lâminas secaram em temperatura

ambiente. Após, foi realizada a coloração das mesmas, utilizando o Kit Panótico de Coloração da marca Laborclin.

Depois de seco, o material foi observado em microscópio óptico binocular da marca Olympus, modelo CX40 para contagem dos micronúcleos presentes e posterior análise dos dados. Foram contadas mil células (quinhentas por lâmina). Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO F).

Após a execução das avaliações acima delineadas e subsequente análise dos testes que avaliam a genotoxicidade, os resultados obtidos foram enviados por e-mail para cada participante desse estudo.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a coleta dos dados, os resultados obtidos nesse estudo foram submetidos à análise estatística. O programa SPSS versão 12.0 foi utilizado na realização dos testes estabelecidos. As variáveis categóricas foram comparadas por teste do Qui-Quadrado. As variáveis contínuas, por teste “t” de *Student* ou análise de variância. A análise de variância de uma via foi seguida de teste *Post Hoc* de Bonferroni para análise multivariada. E, a verificação de possíveis variáveis intervenientes foi efetuada pelo teste Regressão Logística.

Foram consideradas associações significativas aquelas cujo $p \leq 0,05$.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, A. J. *et al.* Diretrizes para Cessação do Tabagismo. J. bras. pneumol., São Paulo, 2009. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S180637132004000800002&lng=en&nrm=iso>. access on 05 Oct. 2009. doi: 10.1590/S1806-37132004000800002.

AYYAD, S. B. *et al.* Evaluation of Papanicolaou Stain for Studying Micronuclei in Buccal Cells under Field Conditions. Acta Cytol., Chicago, v. 50, no. 4, p. 398-402, July/Aug. 2006.

BARRETO, M. C. D.; FRONZA, B. A.; CRUZ, M. B. I.; ROCHA, M. U. I.; SILVEIRA, F. A. Equilíbrio dinâmico, estilo de vida e estados emocionais em adultos jovens. Rev. Bras. Otorrinolaringol., 2009. (no prelo)

BELIEN, J.A. *et al.* Standardization of Counting Micronuclei: Definition of a Protocol to Measure Genotoxic Damage in Human Exfoliated Cells. Carcinogenesis, New York, v. 16, no.10, p. 2395- 2400, Oct. 1995.

BENTO, R. F.; BOHADANA, S. C.; LIMA, S.; SILVEIRA, J. A. M. – Sintomas vestibulares e alterações no exame eletroneistagmográfico: estudo de 230 casos. Revista Brasileira Otorrinolaringologia, 64(4): 71-9, 1999.

BITTAR, R. S. M.; PEDALINI, M. E. B.; SZNIFER, J.; FORMIGONI, L. G. Reabilitação Vestibular: Opção Terapêutica na Síndrome do desequilíbrio do idoso. Gerontologia 2000; 8(1): 9-12.

BITTAR, R. S. M. *et al.* Prevalency of metabolic disorders in dizzy patients. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, São Paulo, v. 69, n. 1, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003472992003000100011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 21 de outubro de 2007.

BITTAR, R. S. M.; PEDALINI, M. E. B. Reabilitação Vestibular. São Paulo: Hoescht; 1999.

BISHOP, M. D.; ROBINSON, M. E.; LIGHT, K. E.; Tobacco use and recovery of gait and balance function in older adults. Arch Phys Med Rehabil. 2009 Sep;90(9):1613-8.

BOMBAIL, V.; AW, D.; GORDON, E.; BATTY, J. Application of the comet and micronucleus assays to butterfish (*Pholis gunnellus*) erythrocytes from the Firth of Forth, Scotland. *Chemosphere*, v.44, p.383-392, 2001.

BONASSI, S.; ZNAOR, A.; CEPPI, M.; LANDO, C.; CHANG, W. P.; HOLLAND, N.; KIRSCH-VOLDERS, M.; ZEIGER, E.; BAN, S.; BARALE, R.; BIGATTI, P.; BOLOGNESI, C.; CEBULSKA-WASILEWSKA, A.; FABIANOVA, E.; FUCIC, A.; HAGMAR, L.; GORDANA, J.; MARTELLI, A.; MIGLIORE, L.; MIRKOVA, E.; SCARFI, M.; ZIJNO, A.; NORPPA, H.; FECECH, M. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*. 28(3): 625-631, 2007.

BLOCHING, M. *et al.* Exfoliative Cytology of Normal Buccal Mucosa to Predict the Relative Risk of Cancer in the Upper Aerodigestive Tract Using the MN-assay. *Oral Oncol.*, Oxford, v. 36, no. 6, p. 550-555, Nov. 2000.

BÜCKER, A.; CARVALHO, W., ALVES-GOMES, J.A. Avaliação da mutagênese e genotoxicidade em *Eigenmannia virescens* (Teleostei: Gymnotiformes) expostos ao benzeno. *Acta Amaz.* 36, n. 3, p. 357-364. 2006.

CASTAGNO, L. A. Distúrbio do equilíbrio: um protocolo de investigação racional. *Revis. Brás. Otorinolaringol.* v. 60. n. 2. p. 124-141, 287-296, 1994a.

CARRARD, V. C.; COSTA, C. H.; FERREIRA, L. A.; LAUXEN, I. S.; RADOS, P. V. Teste dos Micronúcleos – Um Biomarcador de Dano Genotóxico em Células Descamadas da Mucosa Bucal. *R. Fac. Odontol. Porto Alegre*, 2007. v. 48, n. 1/3, p. 77-81.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Cigarette smoking among adults - United States, 1991. *JAMA*, 269:1931, 1993.

CHEN, C. *et al.* Cytogenetic Damage in Buccal Epithelia and Peripheral Lymphocytes of Young Healthy Individuals Exposed to Ozone. *Mutagenesis*, Oxford, v. 21, no. 2, p. 131-137, Mar. 2006.

COLLINS, A. R.; DUTHIE, S. J. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cells, *Mutat. Res. (DNA Repair)*, v. 336, p.69–77, 1995.

COLLINS, A. R. *et al.* (2008). The comet assay: topical issues. *Mutagenesis*, v. 23, 3, p. 143-151.

DESAI, S. S. *et al.* Cytogenetic Damage in Exfoliated Oral Mucosal Cells and Circulating Lymphocytes of Patients Suffering from Precancerous Oral Lesions. *Cancer Lett.*, Amsterdam, v. 109, no. 1-2, p. 9-14, Dec. 1996.

DE LUCA, G.; RUSSO, M. T.; DEGAN, P.; TIVERON, C.; ZIJNO, A.; MECCIA, E.; VENTURA, I.; MATTEI, E.; NAKABEPPU, Y.; CRESCENZI, M.; PEPPONI, R.; PÈZZOLA, A.; POPOLI, P.; BIGNAMI, M. A role for oxidized DNA precursors in Huntington's disease-like striatal neurodegeneration. *PLoS Genet.* 2008 Nov;4(11):e1000266. Epub 2008

DECODIER, I.; CUNDARI, E.; KIRSCH-VOLDERS, M. Influence of caspase activity on micronuclei detection: a possible role for caspase-3 in micronucleation. *Mutagenesis.* 20(3): 173-179, 2005.

DOLL, R.; PETO, R.; BOREHAM, J.; SUTHERLAND, I. Mortality in relation to smoking: 50 years' observation on male British doctors. *BMJ* 2004;328:1519-33.

FENECH, M. *et al.* The HUman MicroNucleus Project—An International Collaborative Study on the use of the Micronucleus Technique for Measuring DNA Damage in Humans. *Mutat. Res.*, Amsterdam, v. 428, no. 1-2, p. 271-283, July 1999.

FERREIRA, H. B. A. Aurélio, o dicionário da língua portuguesa. 7ª Ed. Positivo; 2009.

FERRARO, M. V. M.; FENOCCHIO, A. S.; MANTOVANI, M. S.; OLIVEIRA RIBEIRO, C.; CESTARI, M. M. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. *Genetics and Molecular Biology*, v.27 (1), p.103-107, 2004

FRENZILI, G.; NIGRO, M.; LYONS, B. P. (2008). The Comet Assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. *Mutation Research – Reviews in Mutation Research.* Article in press (MUTREV-7886), 13p.

FOOD and DRUG ADMINISTRATION. Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticais. 2005 Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/ichs2a.pdf>. Acesso em 06 out. 2007

FUCHS, F. D. Fármacos usados em cardiopatia isquêmica. In: Fuchs, F. D. & Wannmacher, L. *Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional*. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 1992. p. 384-409.

GANANÇA, M. M.; CAOVILLA, H. H. Desequilíbrio e reequilíbrio. In Ganança M. M. Vertigem tem cura? São Paulo: Lemos, 1998.

GANANÇA, M. M.; CAOVILLA, H. H.; MUNHOZ, M. S. L.; SILVA, M. L. G.; GANANÇA, F. F.; GANANÇA, C. F.; A Hodologia Clínica do Sistema Vestibular, In: CAOVILLA, H. H.; GANANÇA, M. M.; MUNHOZ, M. S. L.; SILVA, M. L. G.; Equilíbriometria Clínica. São Paulo: Atheneu, 1999.

GANANÇA, F. F.; GANANÇA, C. F.; CAOVILLA, H. H.; GANANÇA, M. M. Como manejar o paciente com tontura por meio da Reabilitação Vestibular. São Paulo: Janssen-Cilag; 2000.

GANANÇA M. M.; CAOVILLA H. H. Como lidar com as tonturas e sintomas associados. In: Ganança M. M. *et al.* Estratégias Terapêuticas em Otoneurologia. São Paulo: Atheneu; 2001. p.1-20.

GANANÇA M. M.; CAOVILLA H. H.; GANANÇA C. F. Vertigem e sintomas correlacionados avaliação funcional do sistema vestibular In: Ganança M. M. (coord.) Vertigem: abordagens diagnósticas e terapêuticas. Fascículo I. São Paulo: Lemos; 2002.

GANANÇA F. F.; PERRACINI M. R.; GANANÇA C. F. Reabilitação dos distúrbios do equilíbrio corporal. In: Ganança M. M. (coord.) Vertigem: abordagens diagnósticas e terapêuticas. Fascículo III. São Paulo: Lemos; 2002.

GANANÇA, Fernando F.; CASTRO, Ana Silvia O.; BRANCO, Fátima C. and NATOUR, Jamil. Interferência da tontura na qualidade de vida de pacientes com síndrome vestibular periférica. Rev. Bras. Otorrinolaringol. [online]. 2004, vol.70, n.1, pp. 94-101. ISSN .

GANANÇA MM; CAOVILLA HH; MUNHOZ MSL; SILVA MLG; GANANÇA FF. Educação continuada em terapêutica otoneurológica: Xequé-mate nas tonturas I: a VPPB em xequé: Acta Awho, 16: 129-37, 1997.

GATTAS, G.J. *et al.* Frequency of Oral Mucosa Micronuclei in Gas Station Operators after Introducing Methanol. Occup. Med., Philadelphia, v. 51, no. 2, p. 107-113, Mar. 2001.

HANDA, P. R. *et al.* Quality of life in patients with benign paroxysmal positional vertigo and/or Ménière's disease. *Revista Brasileira de Otorinolaringologia*, São Paulo, v. 71, n. 6, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-72992005000600015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 22 de outubro de 2007.

HEDDLE, J. A.; CIMINO, M. C.; HAYASHI, M.; ROMAGNA, F.; SHELBY, M. D.; TUCKER, J. D.; GREGOR. Micronuclei as index of cytogenetic damage: past, present, and future. *Environ.Mol. Mutagen.* 1991; 18:277-291.

HERDMAN S. J. *Reabilitação Vestibular* 2^a ed. Manole; 2002.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, Ministério da Saúde. Governo Federal. Coordenação de Prevenção e vigilância. *Consenso* 2001;1-36.

JAUHAR, S. Life out of Balance. *New York Magazine* 6; 2001.

KATZ, J. *Tratado de Audiologia*. Monole: São Paulo. 4^a Edição, 2003.

KARAHALIL, B. *et al.* The Micronucleus Assay in Exfoliated Buccal Cells: Application to Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Mutat. Res.*, Amsterdam, v. 442, no. 1, p. 29-35, June 1999.

KRISHNA, G.; HAYASHI, M. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Mutat Res.* 455: 155-166, 2000.

LANCASTER, T.; STEAD, L.F. - Individual behavioral counseling for smoking cessation (Cochrane Review). *In: The Cochrane Library*, Issue 2, 2004. Oxford: Update Software.

LEMO, C. T.; ERDTMANN, B. Cytogenetic evaluation of aquatic genotoxicity in human cultured lymphocytes. *Mutat. Res.* 467 p. 1-9, 2000.

LOURENCO, E. A. *et al.* Distribution of neurotological findings in patients with cochleovestibular dysfunction. *Revista Brasileira de Otorinolaringologia*, São Paulo, v. 71, n. 3, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034 >. Acesso em: 12 de outubro de 2007.

LOLIO, C. A.; SOUZA, J. M. P. de.; SANTOS A. H.; BUCHALLA, C. M. Prevalência de tabagismo em localidade urbana da região Sudeste do Brasil. *Rev. Saúde Pública*, 27:262-5, 1993.

IKI M; ISHIZAKI H; AALTO H; STARCK J; PYYKKÖ I. Smoking habits and postural stability. *Am J Otolaryngol*. 1994 Mar-Apr;15(2):124-8

MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in on root-tips. *Genet. and Molec. Biol.* 29, n. 1, p. 148-158, 2006.

MERSCH, J.; BEAUVAIS, M. N. The micronucleous assay in the zebra mussel, *Deissena polymorpha*, to *in situ* monitor genotoxicity in freshwater environments. *Mutation Research*.1997; 383: 141-149.

MICO, J. A.; BREA M. R. M.; VINARDELL, A. R.; CORRALES, M. O. R.; ALVARO A. O. Neurobiología de la adicción a la nicotina. *Prevención del Tabaquismo* 2000;130:28-40.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (2004); Disponível em: <http://www.who.int/en/> Acesso em 13 de outubro de 2007.

PEDALINI, M. E. B.; BITTAR, R. S. M. – Reabilitação vestibular: uma proposta de trabalho. *Pró-Fono Revista de Atualização Científica*, 1(2): 140–4, 1999.

POPPER, V. M. A Reabilitação Vestibular na Vertigem. Itajaí, 2001. 46f. Monografia (Especialização em Fonoaudiologia Clínica) – Centro de Especialização em Fonoaudiologia e Audiologia Clínica.

POHLMANN, P. R.; LOSS, J. F.; FLORES, C.; BOLZZONI A.; DUNCAN, B. B.; ZIMMER, P. M. Tabagismo em Porto Alegre: Prevalência e o papel dos profissionais da saúde na prevenção. *Rev. Ass. Med. Bras.*, 37:8-14, 1991.

RAMIREZ, A.; SALDANHA, P. H. Micronucleus Investigation of Alcoholic Patients with Oral Carcinomas. *Genet. Mol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 1, no. 3, p. 246-260, Sept. 2002.

ROSS, G. M.; McMILLAN, T.J.; WILCOX, P.; COLLINS, A. R. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): Technical Aspects and applications. Report on the 5th LH Gray Trust Workshop, Institute of Cancer Research. Mutation Research, v. 337, p. 57-60, 1995.

SINGH, N. P.; MCCOY, M. T.; TICE, R. R.; SCHNEIDER, E. L.; A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. Exp. Cell Res. v.175, p. 184–191, 1998.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. Genética Toxicológica. Porto Alegre: Editora alcance, 2003. 422p

SCHMID, W. The micronucleus test. Mutation Research, v. 31, p. 9-15, 1975.

SUHAS, S. *et al.* Application of the Micronucleus Test to Exfoliated Epithelial Cells from the Oral Cavity of Beedi Smokers, a High-Risk Group for Oral Cancer. Mutat. Res, Amsterdam, v. 561, no. 1-2, p. 15- 21, July. 2004.

TITENKO-HOLLAND, N. *et al.* Quantification of Epithelial Cell Micronuclei by Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) in Mortuary Science Students Exposed to Formaldehyde. Mutat. Res., Amsterdam, v. 371, no. 3-4, p. 237-48, Dec. 1996.

TICE, R. The Single Cell/ Comet Assay: A Microgel Eletroforetic Technique for the Detection of DNA Damage and Repair in Individual Cell. In: Phillips, D. H.; Vennit, S. (Eds.). Environmental Mutagenesis. Bios Scientific Publishers Ltd. Oxford, UK. 1995; 315- 339.

TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J. C.; SASAKI, Y. F. Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. Environ. and Molec. Mutag. 35, p. 206-221, 2000.

TOLBERT, P .E.; SHY, C. M.; ALLEN, J. W. Micronuclei and Other Nuclear Anomalies in Buccal Smears: Methods Development. Mutat. Res., Amsterdam, v. 271, no. 1, p. 69-77, Feb. 1992.

TUCCI, S.; GENN, R. F.; MARCO, E.; FILE, S. E. Do different mechanisms underlie two angiogenic effects of systemic nicotine? Behav Pharmacol 2003;14:323-9.

ZHONG NC, JIN J. New posture equilibrometer for the diagnosis of vestibular disease. *Eur Arch Otorhinolaringol* 1991; 248: 135-8.

US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. *Preventing tobacco use among young people: a report of the Surgeon General*. Atlanta: US Department of Health and Human Service, CDC, National Center for Chronic Diseases Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health; 1994.

VIEIRA, G. R. *Posturografia dinâmica em indivíduos que trabalham na construção civil exposto à altitude*. 2006. Dissertação (Mestrado em Distúrbios da Comunicação Humana) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. 2003. Disponível em <http://www.who.org> (acesso em agosto de 2007)

YENDLE, J. E.; TINWELL, H.; ELLIOT, B. M.; ASHBY, J. The genetic toxicity of time: Importance of DNA – unwinding time to the outcome of single-cell gel electrophoresis assays. *Mutation Research – Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 375, p.125-136, 1997.

ARTIGO DE PESQUISA I

AVALIAÇÃO DO EQUILÍBRIO ATRAVÉS DO TESTE POSTUROGRÁFICO DINÂMICO “FOAM-LASER” EM UMA POPULAÇÃO DE ADULTOS JOVENS TABAGISTAS E NÃO TABAGISTAS

RESUMO

OBJETIVO: analisar a influência do tabagismo no equilíbrio de adultos jovens através da avaliação posturográfica dinâmica “foam-laser”. **MÉTODOS:** o estudo aqui conduzido foi quantitativo, tipo caso-controle, transversal e contemporâneo em sessenta adultos jovens (18-32 anos) sendo trinta tabagistas e trinta não tabagistas. Cada um desses grupos foi composto por 50% (n=15) do gênero feminino e 50% do gênero masculino (n=15). A amostra foi selecionada a partir de mil e vinte e quatro voluntários incluídos em um estudo prévio do Projeto Tabagismo e Nutrigenética, desenvolvido na Universidade Federal de Santa Maria. A seleção da amostra foi realizada corrigindo-se as seguintes variáveis entre os grupos tabagista e não tabagista: gênero, idade, perfil socioeconômico, cultura e estilo de vida. **RESULTADOS:** Os participantes do estudo apresentaram uma idade média de $24,88 \pm 3,71$ anos não existindo diferenças significantes entre fumantes e não fumantes. Na amostra investigada não houve diferenças significantes entre os gêneros. A análise multivariada da comparação mostrou que os fumantes apresentaram um desempenho inferior no equilíbrio, quando avaliados através dos parâmetros TOS I, TOS VI e na média geral do que não fumantes, independente de serem homens ou mulheres. A análise dos sistemas sensoriais, sentidos visual, vestibular e proprioceptivo mostraram similaridades nas médias entre fumantes e não fumantes. Foi ainda conduzida uma análise com a média dos valores do TOS V e do TOS VI, cuja alteração pode indicar deficiência vestibular, os resultados mostraram valores de $42.65 \pm 13.76\%$ para os tabagistas sendo significantemente mais baixos dos observados em não tabagistas ($49.63 \pm 11,71\%$) ($p=0,036$). **CONCLUSÃO:** A investigação conduzida nesse trabalho sugere que o tabagismo influencia negativamente no equilíbrio de adultos jovens. Essa influência pode ser tanto pela ação da nicotina quanto pelo aumento do estresse oxidativo. Estudos complementares para testar esses fatores causais são necessários.

Palavras-chave: equilíbrio, tontura, tabagismo.

BALANCE EVALUATION BY DYNAMIC POSTUROGRAFIC TEST "FOAM-LASER IN A POPULATION OF SMOKING AND NON-SMOKING YOUNG ADULTS

ABSTRACT

PURPOSE: analyze possible relationship between smoking and balance disturbance by dynamic posturographic evaluation "foam-laser". **METHOD:** It was a quantitative study, case-control, transversal, contemporary in 60 young adults (18-32 years), 30 smoking and 30 non-smoking. Each one of this groups was composed by female 50% (n=15) and male 50% (n=15). The sample was selected from 1024 volunteers in a previous Universidade Federal de Santa Maria research called Smoking and Nutrigenetic project. Sample selection was made after correction of the following variables in both group smoking and non-smoking: Sex, age, socioeconomic profile, education and life style. **RESULTS:** The mean age was $24,88 \pm 3,71$ years. Both groups were homogeneous. Gender does not show significant difference, as well. Multivariate analysis shows that smokers had worse balance than non-smokers when evaluated by TOS I, TOS VI, regardless of gender. Sensorial system, vision, vestibular system and proprioception analysis show similarities between smokers and non-smokers. An additional analysis was made using only the mean values of TOS V and TOS VI, which alteration can signify vestibular system deficiency, smokers had significant low values of $42.65 \pm 13.76\%$ and non-smokers $49.63 \pm 11,71\%$ ($p=0,036$). **CONCLUSION:** The sample evaluated in this research suggest the smoking exert negative influence in the young adult's balance. Which can be nicotine action dependent or related with oxidative stress increase. Complementary studies should be done in order to test this hypothesis.

Key-Words: balance, dizziness, smoking.

1. INTRODUÇÃO

O equilíbrio corporal é essencial para o viver e principalmente para o bem-estar da população em qualquer idade. É através dele que se obtém a capacidade de caminhar de se exercitar e praticar todas as atividades do cotidiano. Entretanto, a sensação de desequilíbrio identificada como tontura é altamente prevalente, sendo considerada a segunda maior queixa entre a população, perdendo apenas para a cefaléia (GANANÇA *et al.*, 1999; HERDMAN *et al.*, 2000).

Em si, a tontura é uma sensação errônea do deslocamento do objeto no meio circundante, e a vertigem é um tipo de tontura na qual os pacientes sentem-se rodando no meio ambiente ou têm a impressão de que o meio ambiente roda em torno deles (NORRÉ, 1990; GANANÇA, COAVILLA & GANANÇA, 1996; GANANÇA *et al.*, 1997; CAMPOS, 1998; PEDALINI *et al.*, 1999). Para os autores supracitados, a tontura acomete um a cada dez indivíduos. Até os sessenta e cinco anos, a tontura é a segunda maior queixa de alterações sensoriais, após essa idade atinge o topo. A prevalência de tontura em indivíduos com idade superior a setenta e cinco anos é de 80,0% e atinge duas vezes mais o gênero feminino.

Sendo o equilíbrio corporal a capacidade de o ser humano manter-se ereto ou executar movimentos de aceleração e rotações do corpo sem oscilações ou queda, o equilíbrio do corpo depende de uma variedade complexa de integrações que ocorrem no sistema nervoso central (SNC), que o permite reconhecer posições e movimentos da cabeça em relação ao corpo e ao espaço. Assim, a postura e o equilíbrio são resultantes do aprendizado decorrente de toda a vida, a partir da vivência de sensações e estímulos existentes do nosso dia-a-dia (PEDALLINI & BITTAR 1999).

Dentre os principais fatores associados a alterações vasculares que potencialmente poderiam afetar o sistema vestibular estariam: o tabagismo, a hipertensão arterial sistêmica, a obesidade por sua associação com alterações ateroscleróticas e inflamatórias e o diabetes mellitus (GANANÇA, 2000; STEHOUWER *et al.*, 2009; GROVER-PÁEZ *et al.*, 2009).

Por tal motivo, é importante conduzir investigações em populações ainda jovens sobre condições de equilíbrio. Com base nessa premissa, estudo prévio conduzido pelo grupo de pesquisa, Barreto *et al.*, (2009), investigaram setecentos e

cinquenta e um indivíduos com idade entre dezoito e trinta e dois anos, quanto a possível associação entre variáveis de estilo de vida, saúde e estados emocionais negativos (depressão, ansiedade e estresse) relacionadas com o equilíbrio. Para tanto, foi aplicado o teste de Unterberg nessa amostra. Os autores observaram que cento e nove indivíduos (14,2%) apresentaram um desvio maior que 45° no teste e que tal desvio estava associado ao tabagismo, abuso/dependência de álcool e hipertensão arterial sistêmica.

Os resultados obtidos apontaram para a necessidade de investigações complementares, analisando o impacto de cada uma das variáveis, que foram positivamente associadas com indicadores do equilíbrio. A primeira variável eleita para a investigação foi o tabagismo. Isso porque a Organização Mundial da Saúde estima que irão ocorrer aproximadamente dez milhões de mortes anuais, por volta do ano 2030, sendo metade delas em indivíduos em idade produtiva (entre trinta e cinco e sessenta e nove anos) (WHO, 2003), caso as atuais tendências de expansão de consumo de cigarros sejam mantidas.

Apesar do efeito negativo do fumo em quase todas as funções corporais, investigações sobre tabagismo e equilíbrio corporal podem ainda ser consideradas incipientes. Entretanto, investigações em idosos, por exemplo, são encontradas na literatura já há cerca de vinte anos, como é o caso do estudo realizado por Iki *et al.*, (1994) que investigou a estabilidade postural em oitenta homens japoneses utilizando a técnica de plataforma de força com olhos fechados. A amostra foi subdividida em cinco categorias: não fumantes, ex-fumantes, fumantes leves, moderados e pesados. Os resultados mostraram que fumantes exibiram resultados posturográficos mais instáveis do que os não fumantes, sugerindo que o tabagismo teria um efeito de longo prazo no sistema de controle postural. Estudos adicionais também associaram tabagismo e instabilidade no equilíbrio a marcha de idosos (SATARIANO *et al.*, 1996; BISHOP *et al.*, 2009).

Apesar desses resultados e da relevância epidemiológica do tema são necessários estudos complementares em adultos jovens tabagistas.

Como a avaliação do controle postural é processo complexo, pois inclui diversos aspectos relacionados, sua avaliação deve ser realizada através da utilização de vários testes. Entre eles pode ser destacada a avaliação das condições de equilíbrio através da Posturografia Dinâmica *Foam-laser* (FLP). Essa técnica foi desenvolvida por Castagno (1994a). Tal teste envolve a avaliação de seis

parâmetros relacionados a oscilações corporais. Essas seis condições são denominadas Teste de Organização Sensorial (TOS), sendo que cada uma indica a contribuição de cada um dos sistemas sensoriais relacionados com a manutenção do equilíbrio com destaque a tríade do equilíbrio (sentidos visual, vestibular e proprioceptivo) (SANZ, 2000).

Um estudo previamente realizado em duzentos e quatro indivíduos sem queixas de alteração do equilíbrio corporal, utilizando a avaliação por FLP, descreveu valores normais para todos os parâmetros do teste que apresentam diferenças entre o gênero e a idade (RUWER *et al.*, 2006). Tomando esse trabalho como referência e os resultados previamente encontrados por Barreto *et al.*, (2009) de associação entre equilíbrio avaliado pelo teste de Unterberg e tabagismo o presente estudo teve como objetivo analisar a influência do tabagismo no equilíbrio de adultos jovens através da avaliação posturográfica dinâmica “*foam-laser*”.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Delineamento, população e amostra

O estudo conduzido foi quantitativo, tipo caso-controle, transversal e contemporâneo, o qual teve como objetivo comparar o equilíbrio através da avaliação FLP em sessenta adultos jovens (entre dezoito e trinta e dois anos) sendo trinta tabagistas e trinta não tabagistas. Cada um desses grupos foi composto por 50% (n=15) do gênero feminino e 50% do gênero masculino (n=15). A amostra foi selecionada a partir de mil e vinte e quatro voluntários incluídos em um estudo prévio do Projeto Tabagismo e Nutrigenética desenvolvido na Universidade Federal de Santa Maria. A seleção da amostra foi feita corrigindo-se as seguintes variáveis entre o grupo tabagista e não tabagista: sexo, idade, perfil socioeconômico, cultura e estilo de vida. Uma vez que existia um maior número de indivíduos os sessenta voluntários foram escolhidos de modo randomizado. O tamanho da subamostra investigada foi estimado considerando um erro amostral de 5%, e um nível de confiança de 95%, estando esse entre 56 a 69 sujeitos. O grupo de indivíduos

tabagistas foi denominado Grupo T e de indivíduos não tabagistas, denominado Grupo NT.

2.2 Local e data das avaliações

Este estudo foi realizado no Serviço de Atendimento Fonoaudiológico (SAF) da Universidade Federal de Santa Maria e no Laboratório de Biogenômica do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde na Universidade Federal de Santa Maria. As avaliações foram efetuadas no período compreendido entre março e junho de 2009.

2.3 Logística geral do estudo

Os indivíduos foram convidados a participar dessa pesquisa através de telefonemas e/ou e-mail. Depois de informados a respeito dos objetivos da pesquisa e das avaliações que ganhariam se aceitassem participar do estudo, eram agendadas as avaliações. Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A), a resposta do questionário (ANEXO D) e a subsequente divisão dos grupos (T e NT), os indivíduos participantes foram submetidos à realização de: (1) *Anamnese* (ANEXO B): contendo perguntas fechadas de identificação e relativas aos sintomas do equilíbrio, antecedentes pessoais e familiares, quantidade diária e tempo de exposição ao fumo; (2) *Avaliação audiológica básica*: foi realizada após a inspeção visual do meato acústico externo, a pesquisa dos limiares auditivos através da audiometria tonal liminar (ATL) por via aérea nas frequências de 250 a 8000 Hz, foram ainda submetidos à logaudiometria, com a pesquisa do Limiar de reconhecimento de fala (LRF) e do Índice percentual do reconhecimento de fala (IPRF), além da execução da imitanciometria, através da realização de timpanometria e pesquisa dos reflexos acústicos contralaterais, os quais foram pesquisados nas frequências de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz; (3) Para a execução da imitanciometria foi utilizado um analisador

de orelha média INTERACOUSTIC A27, fone TDH-39 e coxim MX-41, tom-sonda de 220 Hz e 70 dBNA. A calibração do aparelho foi realizada segundo a norma ISO 389-1991; (4) Os dados dessa pesquisa foram obtidos em uma cabine tratada acusticamente, as avaliações realizadas em um audiômetro digital de 2 canais de marca Fonix, modelo FA-12, tipo I e fones auriculares tipo TDH-39P de marca Telephonics; (5) Os participantes da pesquisa que apresentaram alterações em qualquer um dos exames audiológicos foram encaminhados para avaliação com médico otorrinolaringologista, com o objetivo de verificar qualquer afecção de orelhas, nariz e/ou garganta; (6) Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO C).

2.4 Avaliação posturografia dinâmica “foam-laser”

A avaliação do equilíbrio foi realizada através da Posturografia Dinâmica “Foam-Laser”, proposta por Castagno (1994a). A Posturografia Dinâmica “Foam-Laser” é uma das formas de avaliação do equilíbrio e consiste em uma cabine de dois metros de altura, confeccionada com um suporte de ferro desmontável que inclina 20°, envolta por um tecido listrado, com listras claras e escuras de dez centímetros de espessura (Figura 3) e uma almofada de espuma de cinquenta centímetros por cinquenta centímetros, dez centímetros de espessura e densidade média. Sobre a cabine foi fixado um papel milimetrado através de um suporte de ferro.



FIGURA 3 – Cabine utilizada no momento da avaliação.

Para a realização do exame um cinto (Figura 4) foi adaptado na cintura do paciente (confeccionado de espuma e com um velcro na extremidade posterior), no qual foi inserida uma caneta a laser, de forma que essa caneta encontrava-se atrás do corpo do paciente em direção ao papel milimetrado (Figura 6). Na hora da avaliação o paciente estava em pé, descalço e com os braços estendidos ao longo do corpo. A Posturografia Dinâmica “*Foam-Laser*” é um teste que mede as oscilações corporais através do “Teste de Organização Sensorial” (TOS) (Figura 5). O TOS é composto por seis etapas:



FIGURA 4 – Cinto no qual é anexada a caneta laser.

TOS I → o paciente mantém os olhos abertos, olhando à frente, sob uma superfície fixa e estável durante vinte segundos;

TOS II → o paciente mantém os olhos fechados, sob uma superfície fixa e estável durante vinte segundos;

TOS III → o paciente mantém os olhos abertos, sob uma superfície fixa e estável e a cabine se movimenta lentamente para frente e para trás durante vinte segundos;

TOS IV → o paciente mantém os olhos abertos, olhando à frente, sob uma espuma de dez centímetros de espessura e densidade média durante vinte segundos;

TOS V → o paciente mantém os olhos fechados, sob uma espuma de dez centímetros de espessura e densidade média durante vinte segundos;

TOS VI → o paciente mantém os olhos abertos, sob uma espuma de dez centímetros de espessura e densidade média e a cabine se movimenta lentamente para frente e para trás durante vinte segundos;

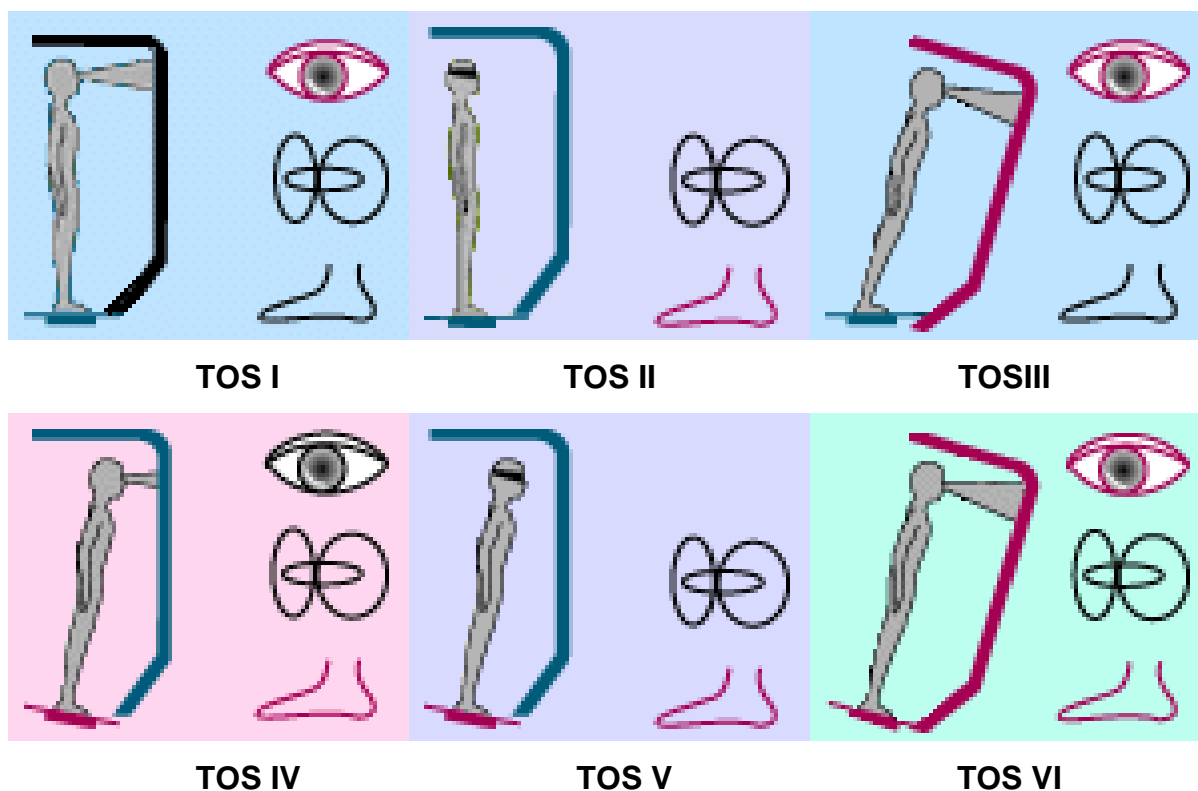


FIGURA 5 – Teste de Organização Sensorial (TOS)

No decorrer desses vinte segundos, o examinador observou o desvio corporal ântero-posterior do paciente. Esse desvio foi anotado e através de um programa de computador foi calculado o ângulo das oscilações. Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO D).

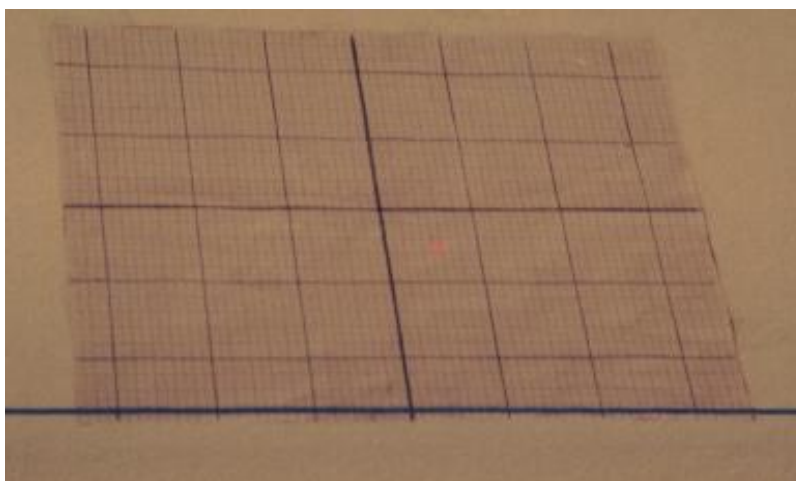


FIGURA 6 – Papel milimetrado localizado sobre a cabine, fixado a um suporte de ferro.

O cálculo do ângulo de oscilação corporal utilizado na técnica FLP foi realizado segundo Castagno, (1994a). A partir da fórmula desenvolvida para essa avaliação obteve-se a indicação de oscilações com o formato de contagem do equilíbrio dos TOS, sendo considerado 100% aqueles indivíduos que não apresentavam nenhum tipo de oscilação (balanço) e 0% aqueles que apresentaram um desvio máximo do equilíbrio ou mesmo queda. Desse modo, a unidade dos resultados do FLP é a porcentagem (%).

Após a execução das avaliações acima delineadas, os resultados obtidos foram enviados por e-mail para cada participante desse estudo.

2.5 Análise estatística

Após a coleta dos dados, os resultados obtidos nesse estudo foram submetidos à análise estatística. O programa SPSS versão 12.0 foi utilizado na realização dos testes estabelecidos. As variáveis categóricas foram comparadas por teste do Qui-Quadrado. As variáveis contínuas por teste “t” de *Student* ou análise de variância. A análise de variância de uma via foi seguida de teste *Post Hoc* de Bonferroni para análise multivariada. E, a verificação de possíveis variáveis intervenientes foi efetuada pelo teste Regressão Logística.

Foram consideradas associações significativas aquelas cujo $p \leq 0,05$.

2.6 Considerações éticas

Esse estudo é um subprojeto do Projeto “Nutrigenética e Tabagismo: estudos *in Vivo* e *Ex Vivo* da Dieta e Atividade Física na Modulação dos Efeitos Pró-Oxidantes do Fumo”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, com o número 0146.0.243.000-07. Foram avaliados somente aqueles indivíduos que concordaram com a realização dos procedimentos necessários para a execução da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A), após terem recebido esclarecimentos sobre o objetivo e metodologia do estudo proposto.

3. RESULTADOS

Os indivíduos da amostra apresentaram uma idade média de $24,88 \pm 3,71$ anos não existindo diferenças significantes entre fumantes e não fumantes. A distribuição das médias para os seis TOS e das análises dos sentidos observados entre o gênero masculino e feminino que participaram do estudo é apresentada na Tabela 1. Como pode ser observado, na amostra investigada não houve diferenças significantes entre os gêneros.

Tabela 1 - Comparação entre as médias dos parâmetros da Posturografia Dinâmica *Foam-Laser* (FLP) entre o gênero masculino e feminino de adultos jovens participantes do estudo.

Parâmetros	Gênero masculino	Gênero feminino	<i>P</i>
TOS I	60.67±11.32	58.11±15.36	0.065
TOS II	53,38±14.33	46,18±19.32	0.468
TOS III	62.97±16.19	63.62±14.74	0.106
TOS IV	52.20±14.88	49.61±15.58	0.879
TOS V	40.88±14.43	40.38±13.09	0.512
TOS VI	56.55±11.09	53.13±13.87	0.889
Média	88.57±12.25	88.90±19.49	0.296
SOM	93.84±31.44	100.18±21.23	0.938
VIS	69.20±12.26	61.76±17.87	0.364
VEST	78.03±30.00	77.92±23.04	0.988

Legenda: TOS – Teste de Organização Sensorial; SOM – Sistema Somatossensorial; VIS – Sistema Visual; VEST – Sistema Vestibular.

A seguir foram realizadas comparações entre os parâmetros do FLP, entre fumantes e não fumantes, que são apresentados na Tabela 2. A análise multivariada da comparação mostrou que os fumantes apresentaram um desempenho inferior no equilíbrio, avaliados através dos parâmetros TOS I, TOS VI e na média geral do que não fumantes, independente de serem do gênero masculino ou feminino.

Tabela 2 - Comparação entre as médias dos parâmetros da Posturografia Dinâmica *Foam-Laser* (FLP) entre tabagistas e não tabagistas adultos jovens participantes do estudo.

Parâmetros	Tabagistas	Não tabagistas	P
TOS I	62,00±17,03	68,96±13,53	0.032*
TOS II	57,26±12,53	61,63±14,13	0.214
TOS III	46,62±16,55	52,94±17,63	0.157
TOS IV	62,87±16,22	63,72±14,70	0.833
TOS V	48,57±16,36	53,24±13,74	0.236
TOS VI	36,73±12,83	44,67±13,55	0.024*
Média	52,77±11,23	56,91±13,65	0.05*
SOM	90,16±17,78	87,26±14,27	0.494
VIS	100,62±32,96	93,39±18,61	0.300
VEST	78,23±33,71	77,72±17,16	0.941

Legenda: TOS – Teste de Organização Sensorial; SOM – Sistema Somatossensorial; VIS – Sistema Visual; VEST – Sistema Vestibular.

* - Significância estatística

A análise dos sistemas sensoriais, sentidos visual, vestibular e proprioceptivo mostraram similaridades nas médias entre fumantes e não fumantes.

Adicionalmente foi conduzida uma análise com a média dos valores do TOS V e do TOS VI, cuja alteração pode indicar deficiência vestibular, os resultados mostraram valores de 42.65±13.76% para os tabagistas sendo significativamente mais baixo dos observados em não tabagistas (49.63±11,71%) (p=0,036).

4. DISCUSSÃO

Os resultados aqui descritos sugerem que o tabagismo influencia negativamente no equilíbrio postural de adultos jovens sem queixa de tonturas ou de problemas de instabilidade postural quando comparados a indivíduos com o mesmo perfil demográfico, que são não fumantes, pelo menos em três parâmetros do FLP. A seguir esses achados serão discutidos em relação à fisiologia do sistema vestibular e as evidências científicas prévias publicadas na literatura.

A função vestibular tem sido exaustivamente investigada nos últimos tempos e o advento da posturografia dinâmica constituiu-se numa preciosa contribuição à exploração da semiologia do aparelho vestibular.

Segundo Ganança (2000), várias são as causas que podem interferir no funcionamento adequado do sistema vestibular periférico e central, dentre elas, encontram-se os distúrbios psicológicos, hormonais, vasculares, genéticos, posturais, degenerativos e traumáticos. Os autores afirmam que a diversidade de etiologia confirma a relação existente entre o sistema vestibular e outros sistemas no organismo humano, contribuindo com acentuada prevalência mundial de sintomas vestibulares como a tontura.

Na ocorrência de um conflito na integração das informações sensoriais, que auxiliam o controle postural, pode ocorrer uma disfunção do equilíbrio corporal, que pode ser traduzida como tontura, podendo atingir indivíduos em qualquer faixa etária, principalmente, os adultos e idosos. A alteração do equilíbrio corporal é a segunda maior causa de consulta médica. (NORRÉ, 1990; GANANÇA *et al.*, 1997)

A tontura de origem vestibular pode ser um fator desencadeante de quedas e quedas recorrentes, pois segundo Herdman *et al.*, (2000), as disfunções vestibulares limitam o controle postural incluindo a estabilidade e o alinhamento corporal.

Campos (1998) aponta que a tontura é mais freqüente no sexo feminino, na proporção de 2:1. A associação de doenças vestibulares com disfunções hormonais e distúrbios metabólicos presentes nas mulheres e, ainda, a maior preocupação feminina em procurar orientação médica em relação aos homens, poderiam justificar essa prevalência (PEDALINI *et al.*, 1999).

Pedalini *et al.*, (1999) referiram que a literatura descreve a prevalência de sintomas vestibulares no sexo feminino. Em estudo realizado pelos autores, no qual realizaram reabilitação vestibular em cento e dezesseis indivíduos, que apresentavam labirintopatias de etiologias variadas e sentiam tontura, setenta e oito (67,2%) eram mulheres e trinta e oito (32,7%) eram homens. Os autores acreditam que o sexo feminino apresenta maior predisposição orgânica às disfunções vestibulares, devido a sua intrínseca variação hormonal e aos distúrbios metabólicos frequentemente encontrados na mulher.

Outros estudos apontam a mulher como mais suscetível do que o homem às alterações otoneurológicas (POLLAK, DAVIES & LUXON, 2002). Essa "sensibilidade" poderia ser atribuída em parte à variação hormonal natural que a

mulher apresenta (BITTAR, 1996). Por tal motivo quando a amostra participante desse estudo foi selecionada teve-se o cuidado de se incluir indivíduos com características etárias, socioeconômica, culturais e do estilo de vida que fossem bastante similares, a fim de diminuir a variação nos resultados obtidos.

É importante também comentar que a posturografia dinâmica é uma técnica muito utilizada no estudo do equilíbrio, pois se baseia no conhecimento de que esse resulta da integração das aferências visuais, vestibulares e proprioceptivas e testa o equilíbrio expondo o indivíduo em diferentes situações. Por esse motivo, a posturografia foi escolhida como método de avaliação, a fim de se observar possíveis déficits no equilíbrio dos indivíduos analisados no presente estudo.

Assim, pode-se dizer que a posturografia constitui um conjunto de técnicas que estuda a postura, portanto informa sobre a função vestibulo-espinhal e da compensação alcançada a esse nível por uma lesão do sistema de equilíbrio, independente do que ocorrera em outros níveis. O seu valor no estudo do reflexo vestibulo-espinal (RVE) é semelhante ao da eletroneistagmografia para o estudo do reflexo vestibulo-ocular (RVO) e constitui um importante complemento a avaliação otoneurológica (BARONA, GARIN & COMECHE, 1993).

Entre as provas de avaliação do equilíbrio temos o Teste de Organização Sensorial (TOS), o TOS analisa a contribuição relativa dos receptores somatosensoriais, visuais e vestibulares na estabilidade global do paciente, indicando qual dos sistemas avaliados é responsável pela instabilidade do indivíduo, assim como sua capacidade de manter o equilíbrio (JACOBSON, NEWMAN & KARTUSH, 1997; SANZ, 2000).

Os resultados aqui obtidos observaram que indivíduos fumantes possuíam uma porcentagem maior de desvio do que os não fumantes. Nashner (1993) relata que a disfunção vestibular pode ser identificada no exame de posturografia computadorizada por meio do aumento da instabilidade corporal nas condições impostas pelo TOS I e V. De acordo com Rossi *et al.*, (2003), a disfunção proprioceptiva é diagnosticada pelo aumento da oscilação corporal com os olhos fechados em comparação com os olhos abertos nas condições I e II dos TOS avaliados. Desse modo, um pior resultado observado nos tabagistas pode ser indicativo de maior instabilidade corporal e alteração proprioceptiva.

O perfil alterado dos valores do TOS VI em fumantes indica problemas na manutenção do equilíbrio. Segundo Nashner & Peter (1990), resultados baixos, tanto

no TOS V, quanto no TOS VI indicam anormalidade vestibular. Isto é, indicam inabilidade para o uso de informações vestibulares. No caso o TOS VI também indica incapacidade para suprir a influência da informação visual.

Um estudo que avaliou três mil casos de distúrbios vestibulares por intermédio posturográfico, que foi realizado por Hamid, Hughes & Kinney (1991), sugeriu como perda vestibular os casos com alterações no TOS V e TOS VI. No presente estudo foram observados valores médios na média desses dois parâmetros mais baixos nos tabagistas. Segundo esses autores essas alterações poderiam estar associadas à hiperfunção do reflexo vestibulo-ocular.

A base biológica da possível influência negativa do tabagismo no equilíbrio corporal pode estar diretamente relacionada à nicotina. Existem estudos sugerindo que a nicotina poderia induzir oscilações posturais. Em 1990, Mosel descreveu o caso de um paciente de sessenta anos que apresentava ataques recorrentes de vertigem, nistagmo vertical, ataxia, náuseas e vômitos, que ocorriam poucos minutos após fumar um cigarro. Nos exames complementares foi encontrada uma lesão de ponte, de provável etiologia isquêmica, com instalação assintomática.

Entretanto, os exatos locais de ação onde a nicotina induz movimentos oculares e alterações posturais não estão claros, uma vez que receptores e neurônios colinérgicos ocorrem em diferentes partes do sistema motor ocular e vestibular. Neurônios colinérgicos dos núcleos vestibulares medial e lateral que se projetam para o cerebelo e medula espinhal e receptores nicotínicos foram detectados nas células ciliadas do labirinto e em todas as divisões do núcleo vestibular, principalmente no núcleo medial (VIDAL *et al.*, 1999).

Os resultados aqui encontrados também corroboram os achados prévios do grupo de pesquisa, em que foi observada maior prevalência de alterações no equilíbrio avaliada pelo teste de Unterberg em fumantes do que não fumantes (BARRETO *et al.*, 2009).

Outro motivo pelo qual o tabagismo poderia estar influenciando negativamente o equilíbrio de adultos jovens seria o aumento do estresse oxidativo que, por sua vez, pode acarretar alterações vasculares que afetam o sistema vestibular (CISZAR *et al.*, 2009). Entretanto, esse é um tema que precisa ser ainda elucidado através de estudos complementares.

Finalmente, é importante comentar que estudos longitudinais e de intervenção são importantes de serem conduzidos para averiguar o poder da associação entre

tabagismo e alterações no equilíbrio, bem como o impacto dessas alterações no envelhecimento biológico.

5. CONCLUSÃO

A investigação conduzida nesse trabalho sugere que o tabagismo influencia negativamente no equilíbrio de adultos jovens. Esta influência pode ser tanto pela ação da nicotina quanto pelo aumento do estresse oxidativo. Estudos complementares para testar esses fatores causais são necessários.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRETO, M. C. D.; FRONZA, B. A.; CRUZ, M. B. I.; ROCHA, M. U. I.; SILVEIRA, F. A. Equilíbrio dinâmico, estilo de vida e estados emocionais em adultos jovens. Rev. Bras. Otorrinolaringol.; 2009. (no prelo)

BARONA, R.; GARIN, L.; COMECHE, C. Estudio del reflejo vestibulospinal. Aplicaciones clínicas de la posturografía. Acta Otorrinolaring Esp 1993; 44(3): 217-21

BITTAR, R. S. M. Sintomatologia auditiva secundária a ação dos hormônios. FEMINA 1996; 27:144-6.

BISHOP, M. D.; ROBINSON, M. E.; LIGHT, K. E. Tobacco use and recovery of gait and balance function in older adults. Arch Phys Med Rehabil. 2009 Sep;90(9):1613-8.

CAMPOS, C. A. H. Principais quadros clínicos no adulto e no idoso. In: Ganança MM. Vertigem tem cura? São Paulo: Lemos Editorial; 1998. p.49-57.

CASTAGNO, L. A. Distúrbio do equilíbrio: um protocolo de investigação racional. Revis Bras Otorinolaringol. v. 60. n. 2. p. 124-141, 287-296, 1994a.

CSISZAR, A.; PODLUTSKY, A.; WOLIN, MS.; LOSONCZY, G.; PACHER, P.; UNGVARI, Z. Oxidative stress and accelerated vascular aging: implications for cigarette smoking. *Front Biosci.* 2009. 1;14:3128-44. Review.

GANANÇA M. M.; CAOVILO H. H.; GANANÇA F. F. Como lidar com a vertigem no idoso. São Paulo: Janssen-Cilag, 1996.

GANANÇA, C. F. Como manejar o paciente com tontura por meio da reabilitação vestibular. 1976. *In: GANANÇA, F.F. Manual de Exercícios de Reabilitação Vestibular.* São Paulo: [s.n], 2000.

GANANÇA, M. M.; CAOVILO, H. H.; MUNHOZ, M. S. L.; SILVA, M. L. G.; GANANÇA, F. F.; GANANÇA, C. F.; A Hodologia Clínica do Sistema Vestibular, *In: CAOVILO, H. H.; GANANÇA, M. M.; MUNHOZ, M. S. L.; SILVA, M. L. G.; Equilíbriometria Clínica.* São Paulo: Atheneu, 1999.

GANANÇA, F. F.; TAGUCHI, C. K.; MOURA, R. C. R *et al.* O que é reabilitação vestibular? *Epistème jul/dez.* 1997 [S.I] 2(2):93-100.

HAMID. M. A.; HUGHES, G. B.; KINNEY, S. E. Specificity and sensitivity of dynamic posturography: a retrospective analysis. *Acta Otolaringol. (Stockh), suppl.* 481, p. 596-600, 1991.

HERDMAN, S. J.; BLATT, P.; SCHUBERT, M. C.; TUSA, R. J. Falls in patients with vestibular deficits. *Am J Otol* 2000;21(6):847-51.

IKI, M.; ISHIZAKI, H.; AALTO, H.; STARCK, J.; PYYKKÖ, I. Smoking habits and postural stability. *Am J Otolaryngol.* 1994 Mar-Apr;15(2):124-8.

ISHIYAMA, G. Imbalance and vertigo: the aging human vestibular periphery. *Semin Neurol.* 2009 Nov;29(5):491-9. Epub 2009 Oct 15.

JACOBSON, G.; NEWMAN, C. W.; KARTUSH, J. M. Handbook of balance function testing. Ed Singular Publishing Group. 1997; 259-335.

MOSEL, A. Paroxysmaler Upbeat-Nystagmus: tabakinduzierter? *Med Klin* 1990;85:119-121.

NASHNER, L. M. A model describing vestibular detection of body sway motion. *Acta Oto-laryngologica*, Stockholm, v. 72, n. 6, p. 429-36, 1971.

_____. Computerized dynamic posturography: clinical applications. In: JACOBSON, G. P.; NEWMAN, C. W.; KARTUSH, J. M. *The handbook of balance function testing*. St. Louis: Mosby-Year Book, 1993. p. 308–333.

NASHNER, L. M.; PETER, J. F. Dinâmico posturography in the diagnostics and management of dizziness and balance disorders. *Neurol Clin*. 1990; 8:331-349.

NORRÉ, M. E. Rationale of rehabilitation treatment of peripheral vestibular disorders. *Acta AWHO* 1990; [S.I]9(3):121-3.

PEDALINI, M. E. B.; BITTAR, R. S. M.; FORMIGONI, L. G.; CRUZ, O. L. S.; BENTO, R. F.; MINITI, A. Reabilitação vestibular como tratamento da tontura: experiência com 116 casos. *Arq. Otorrinolaringol* 1999;2(2):74-8.

PEDALINI, M. E. B.; BITTAR, R. S. M. Reabilitação vestibular: uma proposta de trabalho. *Pró-Fono Revista de Atualização Científica*, 1(2): 140–4, 1999.

POLLAK, L.; DAVIES, R. A.; LUXON, L. L. Effectiveness of the particle repositioning maneuver in benign paroxysmal positional vertigo with and without additional vestibular pathology. *Otol Neurotol* 2002;23(1):79-83.

ROSSI, A. G *et al.* Reabilitação Vestibular e Posturografia Dinâmica. Caderno didático. Fonoaudiologia. UFSM. 2003

RUWER, S. L.; ROSSI, A. G.; SIMON, L. F. Equilíbrio no idoso. *Rev. Bras. Otorrinolaringol*. [online]. 2005, vol.71, n.3, pp. 298-303. ISSN 0034-7299.

SANZ, R. Test vestibular de autorrotación y posturografía dinámica. *Verteré* 2000; 25: 5-15.

SATARIANO, W. A.; DELORENZE, G. N.; REED, D.; SCHNEIDER, E. L. Imbalance in an older population: an epidemiological analysis. *J Aging Health*. 1996 Aug;8(3):334-58.

STEHOUWER, C. D. A.; JACOBS, C.; RAUWERDA, A. Combined vitamin B6 plus folic acid therapy in young patients with arteriosclerosis and hyperhomocysteinemia. *J. Vasc. Surg.* 2009; 20: 933-940.

VIDAL, P. P.; VIBERT, N.; SERAFIN, M.; BABALIAN, A.; MÜHLETHALER, M.; DE WAELE, C. Intrinsic physiological and pharmacological properties of central vestibular neurons. *Adv Otorhinolaryngol* 1999;55:26-81.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. 2003. Disponível em <http://www.who.org> (acesso em agosto de 2007)

ARTIGO DE PESQUISA II

ANÁLISE DA INTERAÇÃO ENTRE TABAGISMO, GENOTOXICIDADE E EQUILÍBRIO CORPORAL EM ADULTOS JOVENS

RESUMO

OBJETIVO: pesquisar uma possível influência do tabagismo na genotoxicidade e no equilíbrio corporal em adultos jovens (18-32 anos). **MÉTODOS:** a partir de um estudo caso-controle preliminar, quantitativo, transversal e contemporâneo, que comparou os indicadores do equilíbrio em 1024 tabagistas e não tabagistas (Barreto *et al.*, 2009), com idade entre dezoito e trinta e dois anos e idade média de $24,88 \pm 3,71$ anos, foi realizado uma segunda investigação caso-controle a partir da seleção randomizada corrigida para sexo, idade, perfil socioeconômico, cultural e estilo de vida de 60 voluntários. Foi selecionado um grupo de indivíduos tabagistas, denominado Grupo T e um composto por não tabagistas, denominado Grupo NT. Nesses indivíduos foi realizada avaliação posturográfica e paralelamente a análise do equilíbrio foram conduzidas avaliações laboratoriais sobre as taxas de dano no DNA (genotoxicidade), através do Teste Ensaio do Cometa e Teste Análise dos Micronúcleos. **RESULTADOS:** as mulheres participantes do estudo fumam em média uma maior quantidade de cigarros por dia e tendem a ser fumantes há mais tempo do que os homens. Há maior taxa de genotoxicidade pelo Teste Cometa em tabagistas do que nos não tabagistas, independente do gênero e idade da amostra. Foi realizada uma análise de correlação entre os índices de dano de DNA e parâmetros do equilíbrio tanto em tabagistas quanto em não tabagistas. Uma associação negativa significativa, ainda que baixa ($r^2 = -0.361$) foi observada entre o percentual do TOS I e taxa de dano de DNA avaliada pelo Teste Cometa. Adicionalmente, foi calculada a distribuição de percentil para os seis parâmetros da avaliação FLP. Como não existem ainda pontos de corte de normalidade, o percentil vinte e cinco foi utilizado para agrupar a amostra. Assim, para o TOS I a amostra foi dividida em indivíduos com valores abaixo ou igual a 59%; para o TOS II o valor da divisão foi 50%, para o TOS III o valor foi 37%, para o TOS IV o valor foi de 57%, para o TOS V o valor foi de 45% e para o TOS VI o valor foi de 32%. A análise estatística confirmou a associação entre tabagismo, TOS I e genotoxicidade. Os tabagistas com TOS I alterado (<59%) apresentaram maior índice médio de dano de DNA ($79,95 \pm 37,90$) do que os não tabagistas ($45,94 \pm 28,52$) ($p=0,028$), estimado pelo Teste Cometa. A frequência de indivíduos com valores de TOS I < 37% foi significativamente menor no grupo tabagista ($n=11$, 36,7%) do que do grupo não tabagista ($n=4$, 13,3%) ($p=0,037$). A razão de chance de indivíduos tabagistas apresentarem valores < 59% no TOS I foi calculada 3,76 (1,03-13,64) maior do que em indivíduos não tabagistas. **CONCLUSÃO:** Apesar de preliminares, os resultados aqui descritos demonstram a influência do tabagismo na genotoxicidade e no equilíbrio estático de adultos jovens medido pelo parâmetro TOS I da avaliação posturográfica dinâmica “foam laser”.

Palavras-Chave: equilíbrio, tontura, tabagismo, genotoxicidade.

INTERACTION'S ANALYZE AMONG SMOKING, GENOTOXICITY AND CORPORAL BALANCE IN YOUNG ADULTS

ABSTRACT

PURPOSE: find out a possible interaction among smoking, genotoxicity and corporal balance in young adults (18-32 years old). **METHOD:** from a preliminary case-control, quantitative, transversal, contemporary study that compared balance indicators among 1024 smokers and non-smokers (Barreto *et al.*, 2009) aged between 18 and 32 years old, mean age $24,88 \pm 3,71$ years a second case-control research was made after a sample randomly corrected to sex, age, socioeconomic profile, education and life style in 60 volunteers. A smoker group was selected and named T Group, and a non-smoker group named NT Group. In these individuals was done Posturographic evaluation and besides the balance analyze, a laboratory evaluation on DNA damage (genotoxicity) was performed, through Comet assay test (Single Cell Electrophoresis assay) and Micronucleus Analyze test. **RESULTS:** In this sample women in average smoked more cigarettes and longer than men. There was a greater rate of genotoxicity measured by Comet assay test, among smokers related with non-smokers, regardless of gender or age. A correlation analysis between DNA damage index and balance parameter was done among smokers and non-smokers. A negative significant association, although low was found ($r^2 = -0.361$), between TOS I and DNA damage index measured by Comet assay test. Additionally, the percentile distribution for six parameters of FLP evaluation was done. As cut-off point of normality does not exist yet, 25th percentile was used in order to clustering the sample. Thereby, TOS I sample became separated in individuals with values under or equal to 59%; TOS II sample was divided in 50%, to TOS III value was 37%, to TOS IV value was 57%, to TOS V value was 45% and to TOS VI value was 32%. Association between smoking, TOS I and genotoxicity was confirmed by statistical analyze. Smokers with TOS I abnormal (<59%) had larger medium index of DNA damage ($79,95 \pm 37,90$) compared with non-smokers ($45,94 \pm 28,52$) ($p=0,028$), valued by Comet assay test. Individuals with TOS I < 37% were significantly smaller in smokers ($n=11$, 36,7%) than in non-smokers ($n=4$, 13,3%) ($p=0,037$). Smokers had an Odds Ratio of 3,76 (1,03-13,64) to have values < 59% in TOS I, larger than non-smokers. **CONCLUSION:** Results in this research, although preliminary, suggest association between smoking and genotoxicity among smokers with static balance abnormalities measured by TOS I from posturographic dynamics evaluation "foam laser".

Key-words: balance, dizziness, smoking, genotoxicity.

1. INTRODUÇÃO

O tabagismo é um comportamento aditivo que possui alta carga de morbimortalidade. Segundo a Organização Mundial da Saúde, caso persista as tendências atuais de expansão no consumo do tabaco nos próximos vinte anos ocorrerá um acréscimo de mortes anuais de 4,9 milhões para 10 milhões. Aproximadamente metade dos óbitos causados pelo tabagismo ocorrerá em indivíduos na idade produtiva (entre trinta e cinco e sessenta e nove anos) (WHO, 2003).

No Brasil, foi realizado um *Inquérito Domiciliar sobre comportamentos de risco e morbidades referidas de doenças e agravos não-transmissíveis – módulo: tabagismo*, realizado pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA), do Ministério da Saúde, em todas as capitais brasileiras incluindo um total de 23.457 indivíduos. Os resultados mostraram que a maior prevalência do uso de cigarros foi encontrada nas capitais dos estados mais desenvolvidos: Porto Alegre (25,2%), Curitiba (21,5%), Belo Horizonte (20,4%) e São Paulo (19,9%) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

O tabagismo tem um impacto sistêmico no organismo humano aumentando a prevalência das morbidades crônicas não transmissíveis como o câncer e as doenças cardiovasculares. Estudos atuais estimam que a mortalidade e a morbidade de doenças cardiovasculares associadas ao tabaco excedem a do câncer de pulmão (LAW & WALD, 2003).

Embora ainda não estejam totalmente elucidadas as causas que fazem com que o cigarro induza disfunção vascular, um número cada vez maior de evidências suporta a hipótese de que o estresse oxidativo e a inflamação crônica façam parte da patofisiologia, que liga o tabaco a doença arterial coronariana e às demais morbidades vasculares (RAIJ *et al.*, 2001; IJZERMAN *et al.*, 2003; CISZAR *et al.*, 2009).

Desse modo, acredita-se que o cigarro possa induzir alterações vasculares periféricas que também atingem outros órgãos corporais incluindo a orelha interna, e assim a audição e o equilíbrio corporal. No caso, a manutenção do equilíbrio corporal é determinada, sob a coordenação do cerebelo, pela integração fisiológica de informações nos núcleos vestibulares do tronco encefálico que são oriundas de

estruturas sensoriais do sistema vestibular, visual e proprioceptivo (GANANÇA & CAOVIALLA, 1998).

Os problemas de origem vestibular respondem por aproximadamente 50% dos casos de distúrbio do equilíbrio corporal (KROENKE, HOFFMAN & EINSTADTER, 2000) sendo assim existe uma grande preocupação em avaliar a função labiríntica por meio de vários testes, com a finalidade de identificar possíveis lesões vestibulares responsáveis pelo comprometimento do equilíbrio corporal.

Infelizmente, quando desordens no sistema vestibulococlear são consideradas, o diagnóstico é baseado apenas na exclusão de outras doenças já que as artérias desse sistema não podem ser diretamente visualizadas. Uma revisão sobre o tema feita por Szirmai (2005) comenta que as desordens no sistema vestibulococlear poderiam ser consideradas como tendo origem vascular não só pela exclusão da presença de outras doenças, mas também se os pacientes possuem fatores de risco vasculares.

Ainda que exista um número muito pequeno de estudos sobre o tema, investigações relacionadas ao impacto do tabagismo no equilíbrio corporal são de grande relevância. Entre as investigações conduzidas que apontam efeito negativo do tabaco no sistema vestibulococlear pode se destacar o estudo de Uchida *et al.*, (1980) que descreveu aumento de oscilações posturais, com duração de até dez minutos induzidas em indivíduos após fumar um cigarro.

Investigações prévias realizadas pela nossa equipe de pesquisa envolvendo adultos jovens sugeriram que tabagistas teriam maior prevalência de alterações do equilíbrio avaliadas tanto pelo uso do teste de Unterberg (BARRETO *et al.*, 2009) quanto pela avaliação posturográfica “foam laser” (BARRETO *et al.*, submetido).

Indicadores de genotoxicidade são avaliados pela taxa de dano no material genético (DNA, ácido desoxirribonucléico) induzida pelo aumento de moléculas de oxigênio desemparelhadas eletricamente, denominadas, genericamente, radicais livres. O aumento na quantidade dessas moléculas no interior das células é que leva ao estado conhecido como estresse oxidativo. No tabagismo o aumento da quantidade de radicais livres ocorre por ter o cigarro uma grande quantidade de moléculas consideradas radicais livres (CISZAR *et al.*, 2009).

Como alterações vasculares associadas ao tabagismo podem envolver diretamente processos de estresse oxidativo, um estudo complementar considerando a presença de genotoxicidade, tabagismo e equilíbrio corporal foram

aqui conduzidos em uma amostra de adultos jovens com o objetivo de averiguar esta possível associação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Delineamento, população e amostra

A partir de um estudo caso-controle preliminar, quantitativo, transversal e contemporâneo, que comparou os indicadores do equilíbrio em 1024 tabagistas e não tabagistas (Barreto *et al.*, submetido), com idade entre dezoito e trinta e dois anos e com idade média de $24,88 \pm 3,71$ anos, foi realizado uma segunda investigação caso-controle a partir da seleção randomizada corrigida para sexo, idade, perfil socioeconômico, cultural e estilo de vida de 60 voluntários. O tamanho da subamostra investigada foi estimado considerando um erro amostral de 5%, e um nível de confiança de 95%, estando esse entre 56 a 69 sujeitos. Assim, foi selecionado um grupo de indivíduos tabagistas, denominado: Grupo T e um composto por indivíduos não tabagistas denominado: Grupo NT.

2.2 Local e data das avaliações

Este estudo foi realizado no Serviço de Atendimento Fonoaudiológico (SAF) da Universidade Federal de Santa Maria e no Laboratório de Biogenômica do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde na Universidade Federal de Santa Maria. As avaliações foram efetuadas no período compreendido entre março e junho de 2009.

2.3 Logística geral do estudo

Os indivíduos foram convidados para participar dessa pesquisa através de telefonemas e/ou e-mail. Depois de informados a respeito dos objetivos da pesquisa e das avaliações que ganhariam se aceitassem participar do estudo, eram agendadas as avaliações. Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A), a resposta do questionário (ANEXO D) e subsequente divisão dos grupos (T e NT), os indivíduos participantes foram submetidos à realização de: (1) *Anamnese* (ANEXO B): contendo perguntas fechadas de identificação e relativas aos sintomas do equilíbrio, antecedentes pessoais e familiares, quantidade diária e tempo de exposição ao fumo; (2) *Avaliação audiológica básica*: foi realizada após a inspeção visual do meato acústico externo, a pesquisa dos limiares auditivos através da audiometria tonal liminar (ATL) por via aérea nas frequências de 250 a 8000 Hz, foram ainda submetidos à logaudiometria, com a pesquisa do Limiar de reconhecimento de fala (LRF) e do Índice percentual do reconhecimento de fala (IPRF), além da execução da imitânciometria, através da realização de timpanometria e pesquisa dos reflexos acústicos contralaterais, os quais foram pesquisados nas frequências de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz; (3) Para a execução da imitânciometria foi utilizado um analisador de orelha média INTERACOUSTIC A27, fone TDH-39 e coxim MX-41, tom-sonda de 220 Hz e 70 dBNA. A calibração do aparelho foi realizada segundo a norma ISO 389-1991; (4) Os dados dessa pesquisa foram obtidos em uma cabine tratada acusticamente, as avaliações realizadas em um audiômetro digital de 2 canais de marca Fonix, modelo FA-12, tipo I e fones auriculares tipo TDH-39P de marca Telephonics; (5) Os participantes da pesquisa que apresentaram alterações em qualquer um dos exames audiológicos foram encaminhados para avaliação com médico otorrinolaringologista, com o objetivo de verificar qualquer afecção de orelhas, nariz e/ou garganta. (6) Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO C).

2.4 Avaliação posturografia dinâmica “foam-laser”

Adicionalmente, foi realizada avaliação do equilíbrio através da Posturografia Dinâmica “Foam-Laser”, proposta por Castagno (1994a). A Posturografia Dinâmica “Foam-Laser” é uma das formas de avaliação do equilíbrio e consiste em uma cabine de dois metros de altura, confeccionada com um suporte de ferro desmontável que inclina 20°, envolta por um tecido listrado, com listras claras e escuras, de dez centímetros de espessura, e uma almofada de espuma de cinquenta centímetros por cinquenta centímetros, dez centímetros de espessura e densidade média. Sobre a cabine foi fixado um papel milimetrado através de um suporte de ferro.

Para a realização do exame um cinto foi adaptado na cintura do paciente (confeccionado de espuma e com um velcro na extremidade posterior), no qual foi inserida uma caneta a laser, de forma que essa caneta encontrava-se atrás do corpo do paciente em direção ao papel milimetrado. Na hora da avaliação o paciente estava em pé, descalço e com os braços estendidos ao longo do corpo. A Posturografia Dinâmica “Foam-Laser” é um teste que mede as oscilações corporais através do “Teste de Organização Sensorial” (TOS). O TOS é composto por seis etapas:

TOS I → o paciente mantém os olhos abertos, olhando à frente, sob uma superfície fixa e estável durante vinte segundos;

TOS II → o paciente mantém os olhos fechados, sob uma superfície fixa e estável durante vinte segundos;

TOS III → o paciente mantém os olhos abertos, sob uma superfície fixa e estável e a cabine se movimenta lentamente para frente e para trás durante vinte segundos;

TOS IV → o paciente mantém os olhos abertos, olhando à frente, sob uma espuma de dez centímetros de espessura e densidade média durante vinte segundos;

TOS V → o paciente mantém os olhos fechados, sob uma espuma de dez centímetros de espessura e densidade média durante vinte segundos;

TOS VI → o paciente mantém os olhos abertos, sob uma espuma de dez centímetros de espessura e densidade média e a cabine se movimenta lentamente para frente e para trás durante vinte segundos;

No decorrer desses vinte segundos, o examinador observa o desvio corporal ântero-posterior do paciente. Esse desvio é anotado e através de um programa de computador é calculado o ângulo das oscilações. Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO D)

2.5 Avaliação de indicadores de genotoxicidade

Paralelamente a análise do equilíbrio foram conduzidas avaliações laboratoriais sobre as taxas de dano no DNA (genotoxicidade) através do Teste Ensaio do Cometa e Teste Análise dos Micronúcleos. Tendo em vista, que o organismo é sistêmico e caso comprovado o dano celular, esse poderia estar ocorrendo em qualquer estrutura do sistema vestibular. Para tanto os seguintes procedimentos foram conduzidos: (1) Coleta de amostra de células epiteliais descamadas da mucosa oral: Coletadas para realização do teste Análise dos Micronúcleos, teste que avalia danos no DNA; (2) para coleta de amostra de células epiteliais, foi solicitado que o voluntário mordiscasse levemente as bochechas para soltura das células, e em seguida, realizasse raspagem com uma espátula de madeira nas duas bochechas. A espátula contendo material celular foi colocada pelo voluntário em um tubo de ensaio cônico, contendo de 3 a 5 ml de Solução Fisiológica 0,9% NaCl gelada; (3) em seguida, os tubos de ensaio foram centrifugados por dez minutos a 1.000 RPM. Para lavagem das células, a solução fisiológica foi trocada, cuidando para que não fossem retiradas as células contidas no fundo do tubo de ensaio. (4) A solução foi homogeneizada com as células utilizando pipeta Pasteur e centrifugadas novamente. O procedimento de lavagem das células/centrifugação foi repetido duas vezes. (5) Em seguida, foi acrescida 1ml de solução fisiológica, homogeneizada e distribuída em duas lâminas (500 µL em cada). As lâminas secaram em temperatura ambiente. (6) Após, foi realizada a coloração das mesmas, utilizando o Kit Panótico de Coloração da marca Laborclin;

(7) Depois de seco, o material foi observado em microscópio óptico binocular da marca Olympus, CX40 para contagem dos micronúcleos presentes e posterior análise dos dados. Foram contadas mil células (quinhentas por lâmina). Os resultados foram anotados em protocolo padrão (ANEXO F)

A *Coleta de Amostra Sanguínea* foi realizada por um farmacêutico, para posterior aplicação dos testes e averiguação dos possíveis danos no DNA, através da Técnica do Teste do Ensaio do Cometa.

Para a coleta sanguínea, o paciente permanecia sentado em uma cadeira e o braço era escolhido. Para a punção o braço era apoiado sobre uma mesa, posicionado em linha reta do ombro ao punho, sem o cotovelo estar dobrado e a palma da mão voltada para cima. A farmacêutica selecionava o local escolhido para venipunção e realizava a anti-sepsia da região utilizando algodão hidrófilo e álcool etílico volume 70%. Em seguida, garroteava o braço do voluntário fazendo uso de um garrote de borracha, sem que o fluxo arterial fosse interrompido. O tempo do garrote no braço do paciente não excedeu a um minuto, o que acarretaria um edema, e foi retirado após o término da venipunção. No ato da venipunção foram utilizadas seringas hipodérmicas sem agulha de 3 e 5ml da BD Plastipak® estéril (apirrogênio - atóxico, esterilizado a óxido de etileno) e agulhas hipodérmicas BD PrecisionGlide® 22 e 23G1 (0,70x25 e 0,60x25, respectivamente, apirrogênio - atóxico, esterilizado a óxido de etileno, parede fina bisel trifacetado). Os lacres da seringa e agulha foram retirados na frente do voluntário. A farmacêutica realizou a punção e em seguida desconectou a agulha e transferiu imediatamente o sangue para tubo com anticoagulante de EDTA da Vacuette® de 2ml (K3E K3EDTA de tampa roxa e aro branco) e homogeneizou o sangue por inversão. O voluntário recebeu bandagem no local onde foi realizada a punção. Os tubos com amostra sanguínea foram revestidos com papel alumínio para evitar dano adicional ao DNA da amostra pela exposição à luz. Agulha e seringa foram descartadas em recipiente próprio para materiais perfurocortantes e infecto-contaminantes.

O *Teste do Ensaio do Cometa* foi realizado de acordo com o método proposto por Singh *et al.*, (1988) e modificado por Collins *et al.*, (1995) exceto pelo uso de enzimas de restrição e pelo método de coloração. A descrição da técnica é misturar 5 µL da amostra (sangue total ou leucócitos) com 90 µL de 0,75% Low Melting Point Agarose em um eppendorf. Adicionar a solução em uma lâmina pré-coberta com 1% agarose normal, adicionar a lamínula e deixar na geladeira por cinco minutos.

Depois retirar cuidadosamente a lamínula e colocar a lâmina em uma cuba com solução de lise (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, 1% Triton X-100 e 10% DMSO, pH 10.00) por um dia a 4°C. Retirar as lâminas da solução de lise e lavá-las com água destilada. Em seguida, colocá-las em uma cuba horizontal contendo solução de eletroforese (1 mM EDTA e 300 mM NaOH, pH > 13). Deixar as lâminas por vinte minutos em repouso para permitir o desenovelamento do DNA, e então realizar a eletroforese por vinte minutos a vinte e cinco volts e trezentos microamperes. Após, colocar as lâminas em uma cuba com solução neutralizadora (0,4 M Tris-Base, pH 7,5) por sete minutos, lavar três vezes com água destilada e deixar secar até o outro dia em temperatura ambiente. Reidratar as lâminas por cinco minutos e colocá-las em uma cuba contendo solução fixadora (15% Ácido Tricloroacético, 5% Glicerol e 5% Sulfato de Zinco) por dez minutos, lavar três vezes e deixar secar a temperatura ambiente. Reidratar as lâminas por cinco minutos e colocá-las em uma cuba contendo solução corante por vinte e cinco minutos a trinta e sete graus centígrados. A solução corante foi preparada na seguinte ordem: misturar 34 ml da Solução B (0,2% Nitrato de Amônio, 0,2% Nitrato de Prata, 0,5% Ácido Tungstosilícico e 0,15% Formaldeído) com 66 ml da Solução A (5% Carbonato de Sódio). Depois da coloração, lavar as lâminas por três vezes em água destilada. A coloração deve ser interrompida colocando as lâminas em solução de Ácido Acético 1%. Após, deixar as lâminas secarem a temperatura ambiente. Cem células são contadas para cada amostra (cinquenta por lâmina).

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico binocular da marca Olympus modelo CX40. As cinco categorias usadas para classificação do Cometa são aquelas propostas por García (2004) e mostradas na Figura 8.

Após a execução das avaliações acima delineadas e subsequente análise dos testes que avaliam a genotoxicidade, os resultados obtidos foram enviados por e-mail para cada participante desse estudo.

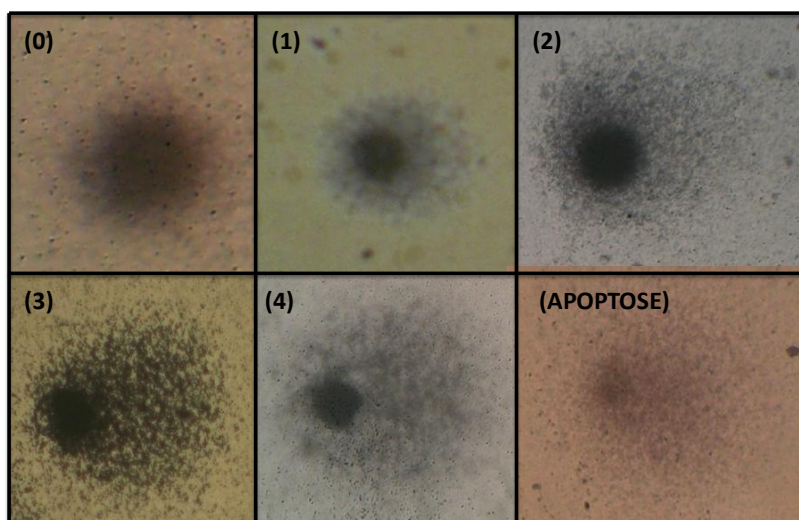


Figura 8 – Representação do Dano ao DNA. Classe 0 representa células sem dano e classe 4 o mais alto dano.

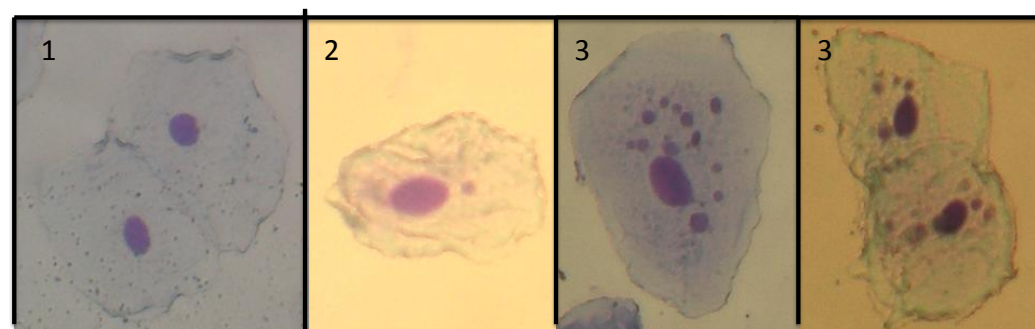


Figura 9 – Classificação dos micronúcleos (MN), 1: célula sem MN; 2: célula com 1 MN; 3: célula com 3 ou mais MNs

2.6 Análise estatística

Após a coleta dos dados, os resultados obtidos nesse estudo foram submetidos à análise estatística. O programa SPSS versão 12.0 foi utilizado na realização dos testes estabelecidos. As variáveis categóricas foram comparadas por teste do Qui-Quadrado. As variáveis contínuas, por teste “t” de *Student* ou análise de variância. A análise de variância de uma via foi seguida de teste *Post Hoc* de

Bonferroni para análise multivariada. E, a verificação de possíveis variáveis intervenientes foi efetuada pelo teste Regressão Logística.

Foram consideradas associações significativas aquelas cujo $p \leq 0,05$.

2.7 Considerações éticas

Esse estudo é um subprojeto do Projeto “Nutrigenética e Tabagismo: Estudos *In Vivo* e *Ex Vivo* da Dieta e Atividade Física na Modulação dos Efeitos Pró-Oxidantes do Fumo” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, com o número 0146.0.243.000-07. Foram avaliados somente aqueles indivíduos que concordaram com a realização dos procedimentos necessários para a execução da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO A), após terem recebido esclarecimentos sobre o objetivo e metodologia do estudo proposto.

3. RESULTADOS

Inicialmente, foram analisados os perfis dos tabagistas participantes do estudo quanto ao tempo de uso do cigarro, quantidade média diária, estimativa de consumo diário de nicotina, alcatrão e monóxido de carbono. Os resultados comparativos entre homens e mulheres fumantes são apresentados na Tabela 3. Como pode ser observado, as mulheres participantes do estudo fumam em média uma maior quantidade de cigarros por dia e tendem a ser fumantes há mais tempo do que os homens. Entretanto, o consumo de nicotina, alcatrão e monóxido de carbono estimado a partir das marcas de cigarro utilizadas e da quantidade de cigarros consumidas diariamente é similar entre homens e mulheres.

Tabela 3 - Comparação das características do comportamento tabagista entre homens e mulheres adultos jovens.

Variáveis	Homens Média±DP	Mulheres Média±DP	<i>P</i>
Tempo de Fumo (anos)	2.71±0.99	3.31±0.87	0.090
Quantidade carteiras cigarros/dia	1.42±0.64	2.00±0.89	0.050*
Consumo estimado de nicotina/dia (mg)	10.07±2.09	9.13±1.76	0.202
Consumo estimado de alcatrão/dia (mg)	0.85±0.16	0.80±0.12	0.427
Consumo estimado de monóxido de carbono/dia (mg)	11.71±2.05	11.00±1.81	0.329

* - Significância estatística

A comparação entre indicadores de genotoxicidade, maior taxa de dano ao DNA pelo teste Cometa em tabagistas do que nos não tabagistas. Essa taxa de dano foi independente do gênero e idade da amostra (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparação entre indicadores de genotoxicidade.

Variáveis	Tabagistas Média±DP	Não tabagistas Média±DP	<i>P</i>
Dano ao DNA (Cometa)	55.85±34.28	38.43±29.11	0.038*
Células com 01 micronúcleo	25.56±14.61	23.53±10.99	0.545
Células com 02 micronúcleos	13.90±9.59	12.83±7.46	0.632
Células com 03 micronúcleos ou mais	12.20±10.15	11.50±6.84	0.755

* - Significância estatística

A seguir foi realizada uma análise de correlação entre os índices de dano de DNA e parâmetros do equilíbrio, tanto em tabagistas, quanto em não tabagistas.

Uma associação negativa significativa, ainda que baixa ($r^2 = -0.361$) foi observada entre o percentual do TOS I e a taxa de dano de DNA avaliada pelo teste Cometa.

Adicionalmente, foi calculada a distribuição de percentil para os seis parâmetros da avaliação FLP. O resultado é apresentado na Figura 10. Como não existem ainda pontos de corte de normalidade bem estabelecidos para essa avaliação, o percentil vinte e cinco foi utilizado para agrupar a amostra. Assim, para o TOS I a amostra foi dividida em indivíduos com valores abaixo ou igual a 59%; para o TOS II o valor da divisão foi 50%, para o TOS III o valor foi 37%, para o TOS IV o valor foi de 57%, para o TOS V o valor foi de 45% e para o TOS VI o valor foi de 32%. A frequência de indivíduos com valores alterados é apresentada na Figura 11.

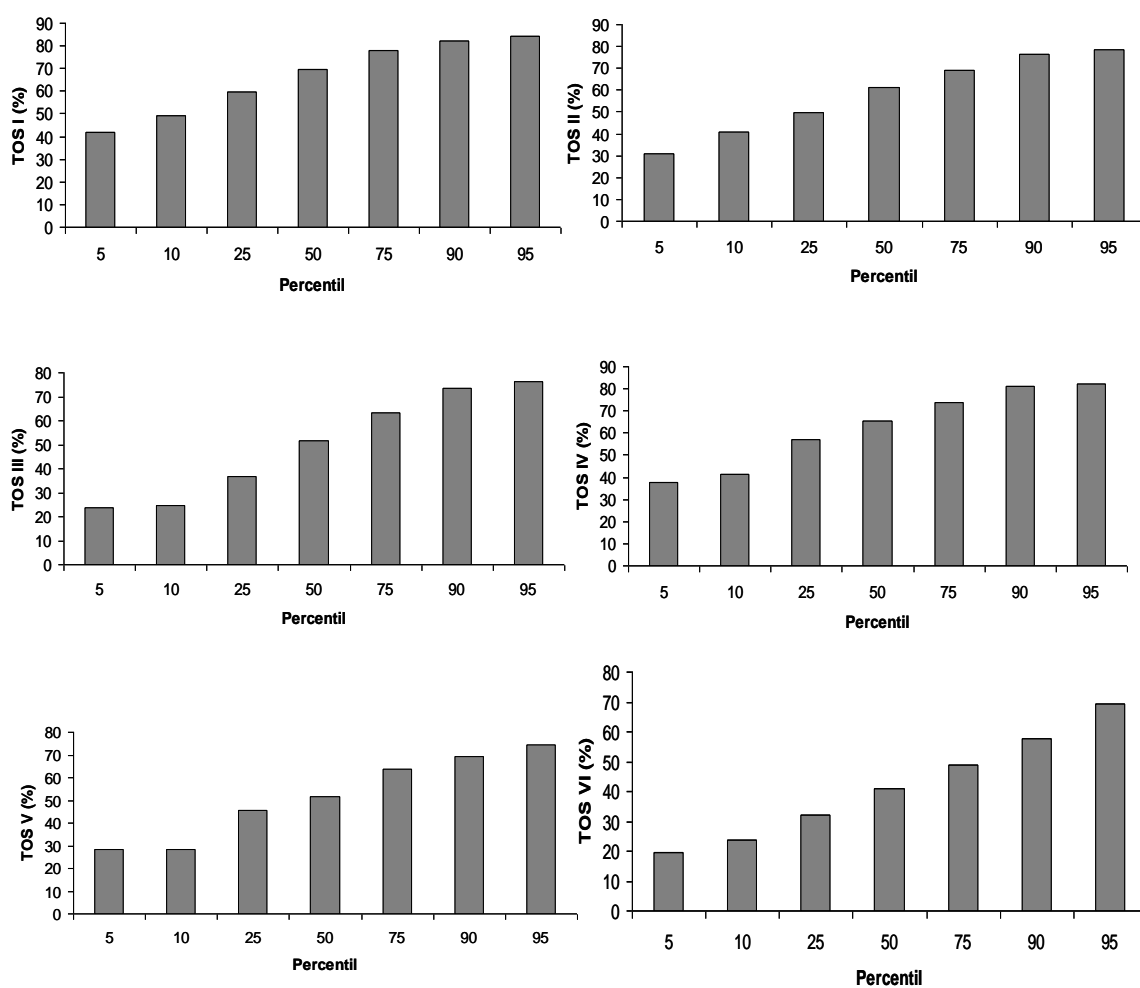


Figura 10. Distribuição de percentil dos valores obtidos para os seis parâmetros (TOS) da posturografia dinâmica "Foam laser".

A análise estatística confirmou a associação entre tabagismo, TOS I e genotoxicidade. Os tabagistas com TOS I alterado (<59%) apresentaram maior índice médio de dano de DNA ($79,95 \pm 37,90$) do que os não tabagistas ($45,94 \pm 28,52$) ($p=0,028$) estimado pelo teste Cometa. A frequência de indivíduos com valores de TOS I < 37% foi significativamente menor no grupo tabagista ($n=11$, 36,7%) do que no grupo não tabagista ($n=4$, 13,3%) ($p=0,037$). A razão de chance de indivíduos tabagistas apresentarem valores < 59% no TOS I foi calculada ser 3,76 (1,03-13,64) maior do que em indivíduos não tabagistas.

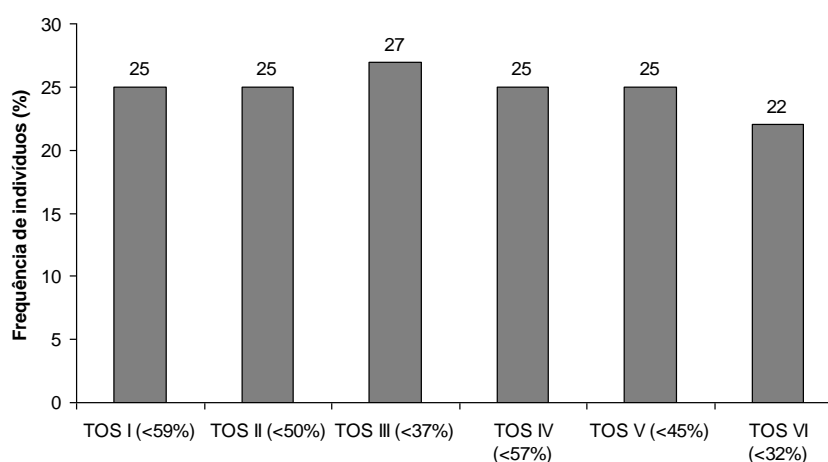


Figura 11. Frequência de indivíduos com percentil abaixo de 25 que indica alterações em cada um dos seis parâmetros TOS da Posturografia Dinâmica "Foam Laser".

4. DISCUSSÃO

No presente estudo foi investigada a possível associação entre tabagismo, alterações no equilíbrio e genotoxicidade em adultos jovens. Os resultados mostraram níveis elevados de genotoxicidade em tabagistas com alterações no TOS I (<59%), que avalia as condições de equilíbrio estático de olhos abertos indicando possível interação desses fatores. Infelizmente, na literatura avaliada não foram observados estudos similares que permitissem uma comparação dos resultados aqui obtidos.

Uma vez que a amostra do estudo foi composta por adultos jovens sem queixa prévia de tontura ou outro tipo de disfunção vestibular o resultado obtido sugere possível associação entre tabagismo, estresse oxidativo e alteração no equilíbrio. Entretanto, estudos complementares terão que ser conduzidos, principalmente em populações com disfunções vestibulares, a fim de confirmar a associação aqui observada.

Adicionalmente, podem ser realizadas análises bioquímicas complementares indicativas de estresse oxidativo como é o caso da peroxidação lipídica e a carbonilação de proteínas. Entretanto, os testes de genotoxicidade (dano no DNA) são amplamente aceitos como medida de estresse oxidativo.

Ainda que a nossa compreensão a respeito da estrutura cromossômica seja incompleta, vários trabalhos têm apontado para a direção de que as anormalidades cromossômicas sejam uma consequência direta de danos causados na sua estrutura. Também é reconhecido que as perdas de cromossomos, ou parte deles, ou ainda, as aneuploidias decorrentes de problemas de não disjunção, são fatores importantes em muitos tipos de câncer e no processo de envelhecimento. Esses problemas são ocasionados por defeitos no fuso, no centrômero ou ainda em função do grau de condensação dos cromossomos (FENECH, 2000).

Assim, existe um esforço crescente em avaliar os impactos ambientais, genéticos e de mudança no estilo de vida sobre a estabilidade genômica na população humana. A importância do Teste do Micronúcleo vem de sua vantagem sobre os demais testes existentes, pois é relativamente fácil de realizar e fornece resultados com forte suporte estatístico. (FENECH *et al.*, 1999). Agentes químicos (fumo, álcool, hábitos alimentares), físicos (traumas mecânicos) ou biológicos (biofilme dental), são exemplos de fatores de presença comum ao ambiente bucal e que podem representar um potencial de formação de micronúcleos às células epiteliais. (FENECH *et al.*, 1999). Porém, não foi observada associação entre a presença de micronúcleos, tabagismo e alteração no equilíbrio. Talvez a falta de associação entre tabagismo e micronúcleos se deva ao fato da amostra ser muito jovem e estar fumando há pouco tempo. Por esse motivo estudos longitudinais ou que incluam indivíduos de faixas etárias mais elevadas e/ou que fumem há mais tempo são importante de serem conduzidos no futuro.

O teste de MNs pode ser utilizado como um indicador e/ou um dosímetro de danos clastogênicos e aneugênicos combinados, já que existe grande evidência do

valor desse biomarcador para a identificação de riscos ambientais e ocupacionais (KOTELES *et al.*, 1993; ROSSNER *et al.*, 2005). Para o mesmo fim, pode ser utilizado também o ensaio cometa, ou eletroforese em gel de célula única, que detecta quebras de fita simples e dupla de DNA e ainda, alterações estruturais da fita, sensíveis ao pH alcalino (sítios álcali-lábeis), sem a necessidade de cultura celular (SINGH *et al.*, 1988; O'NEILL *et al.*, 1993).

Essas técnicas são bastante utilizadas para monitorar populações ocupacionalmente expostas a agentes genotóxicos, como: chumbo, óxido de etileno, radiação ionizante (MALUF & ERDTEMAN, 2000a e b, MIGLIORE *et al.*, 1991; MALUF, 2004; MINOZZO *et al.*, 2004;), incluindo hábitos de vida, como o tabagismo e abuso de drogas ilícitas (SANDBERG, 1991; CHENG *et al.*, 1996; YU *et al.*, 1999; BONASSI *et al.*, 2003; NERI *et al.*, 2003;).

Pesquisa realizada em pacientes com leucemia para avaliar o dano de DNA causado por drogas antineoplásicas e outros fatores ambientais, analisou que o tabagismo não influenciou de forma significativa o índice de dano medido pelo ensaio cometa, nem na amostra total, nem nos grupos de pacientes com leucemia e indivíduos controle. Mas, no geral, em toda a amostra estudada, o tabagismo influenciou de forma a aumentar as frequências de MN (NASRALLA, 2008).

O ensaio cometa está sendo aplicado em estudos relacionados à intervenção dietética, com o acompanhamento do aumento dos danos de DNA resultando em doenças, no tratamento com drogas genotóxicas e no monitoramento de indivíduos expostos a substâncias genotóxicas pelo estilo de vida, poluição ambiental ou ocupação profissional (FAUST, 2004; MALUF *et al.*, 2007).

Finalmente, é importante comentar as possíveis limitações metodológicas associadas ao estudo aqui realizado. Uma delas é o tamanho amostral relativamente pequeno que não permite analisar outras possíveis variáveis intervenientes na associação, por exemplo: investigações analisando tabagismo e obesidade/sobrepeso ou tabagismo e dislipidemia que são importantes fatores de risco ateroscleróticos e cardiovasculares. De qualquer modo, os resultados aqui encontrados já são instigantes e, portanto, investigações complementares futuras podem auxiliar no esclarecimento do efeito do tabagismo no controle do equilíbrio corporal e se esse processo realmente passa pelo aumento no estresse oxidativo.

5. CONCLUSÃO

Apesar de preliminares, os resultados aqui descritos demonstram a influência do tabagismo na genotoxicidade e no equilíbrio estático de adultos jovens medido pelo parâmetro TOS I da avaliação posturográfica dinâmica “*foam laser*”.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRETO, M. C. D.; FRONZA, B. A.; CRUZ, M. B. I.; ROCHA, M. U. I.; SILVEIRA, F. A. Equilíbrio dinâmico, estilo de vida e estados emocionais em adultos jovens. Rev. Bras. Otorrinolaringol., 2009. (no prelo)

BARRETO, M. C. D.; CRUZ, M. B. I.; SILVEIRA, F. A. Avaliação do equilíbrio através do teste posturográfico dinâmico “foam-laser” em uma população de adultos jovens tabagistas e não tabagistas.(Submetido)

BONASSI, S.; NERI, M.; LANDO, C.; CEPPI, M.; LIN, Y.; CHANG, W. P.; HOLLAND, N.; KIRSCH-VOLDERS, M.; ZEIGER, E.; FENECH, M. Effect of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes: results from the Human MicroNucleus project. Mutation Research, 543: 155-166, 2003.

CASTAGNO, L. A. Distúrbio do equilíbrio: um protocolo de investigação racional. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. v. 60. n. 2. p. 124-141, 287-296, 1994a.

CHENG, T.; CHRISTIANI, D. C.; XU, X.; WAIN, J. C.; WIENCKE, J. K.; KELSEY, K. T. Increased micronucleus frequency in lymphocytes from smokers with lung cancer. Mutation Research, 349: 43-50, 1996.

CSISZAR, A.; PODLUTSKY, A.; WOLIN, M. S.; LOSONCZY, G.; PACHER, P.; UNGVARI, Z. Oxidative stress and accelerated vascular aging: implications for cigarette smoking. Front Biosci. 2009 Jan 1;14:3128-44.

FAUST, F.; KASSIE, F.; KNASMÜLLER, S.; BOEDECKER, R. H.; MANN, M.; MERSCHSUNDERMANN, V. The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. Mutation Research, 566: 209-229, 2004.

FENECH, M. et al. The HUman MicroNucleus Project—An International Collaborative Study on the use of the Micronucleus Technique for Measuring DNA Damage in Humans. *Mutat. Res.*, Amsterdam, v. 428, no. 1-2, p. 271-283, July 1999

FENECH, M. (2000). The *in vitro* micronucleus technique. *Mutation Research – Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Amsterdam, v. 455, p. 81-95.

GANANÇA, M. M. & CAOVILO, H. H. Desequilíbrio e reequilíbrio. In Ganança M. M. *Vertigem tem cura?* São Paulo: Lemos, 1998.

IJZERMAN, R. G.; SERNE, E. H.; van WEISSENBRUCH, M. M.; de JONGH, R. T.; STEHOUWER, C. D. Cigarette smoking is associated with an acute impairment of microvascular function in humans. *Clin Sci (Lond)*. 2003; 104: 247-252. [PubMed: 12605581]

KOTELES, G. J., BOJTOR, I., SZIRMAI, S., BERCESE, J., ÓTOS, M. Micronucleus frequency in cultured lymphocytes of an urban population. *Mutation Research*, 319:267-271, 1993.

KROENKE, K.; HOFFMAN, R. M.; EINSTADTER, D. How common are various causes of dizziness? A critical review. *South Med J*, 2000, 93(2):160-7.

LAW, M. R.; WALD, N. J. Environmental tobacco smoke and ischemic heart disease. *Prog Cardiovasc Dis*. 2003; 46:31–38. [PubMed: 12920699]

MALUF, S. W. Monitoring DNA damage following radiation exposure using cytokinesisblock micronucleus method and alkaline single-cell gel electrophoresis. *Clinica Chimica Acta*, Elsevier Science Publishers, 347: 15-24, 2004.

MALUF, S. M.; ERDTMANN, B. Evaluation of occupational genotoxic risk in a Brazilian hospital. *Genetics and Molecular Biology*, 23: 485-488, 2000a.

MALUF, S. W.; MERGENER, M.; DALCANALE, L.; COSTA, C. C.; POLLO, T. A.; KAYSER, M.; SILVA, L. B.; PRA, D.; TEIXEIRA, P. J. Z. DNA damage in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Mutation Research* 626:180–184,2007.

MALUF, S. M.; ERDTMANN, B. Follow-up study of genetic damage in lymphocytes of pharmacists and nurses handling antineoplastic drugs evaluated by cytokinesis-block micronuclei analysis and single cell gel electrophoresis assay. *Mutation Research*, 471: 21-27, 2000b.

MIGLIORE, L.; PARRINI, M.; SBRANA, I.; BIAGINI, C.; BATTAGLIA, A.; LOPRIENO, N. Micronucleated lymphocytes in people occupationally exposed to potential environmental contaminants: the age effect. *Mutation Research*, 256:13-20, 1991.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/default.cfm>. Acesso em outubro de 2009.

MINOZZO, R., DEIMLING, L. I., GIGANTE, L. P., SANTOS-MELLO, R. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to lead. *Mutation Research*, 565: 53- 60, 2004.

NASRALLA, D. F. Avaliação do dano de DNA causado por drogas antineoplásicas e outros fatores ambientais em pacientes com leucemia, RS. 2008. Dissertação (Mestrado em Gestão Tecnológica: Qualidade Ambiental), Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2008.

NERI, M.; FUCIC, A.; KNUDSEN, L. E.; LANDO, C.; MERLO, F. ; BONASSI, S. Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review. Elsevier Science Publishers, 544: 243-254, 2003.

O'NEILL, K. L.; FAIRBAIRN, D. W.; STANDING, M. D. Analysis of single-cell gel electrophoresis using laser-scanning microscopy. *Mutation Research*, 319:129-134.1993.

RAIJ, L.; DEMASTER, E. G.; JAIMES, E. A. Cigarette smoke-induced endothelium dysfunction: role of superoxide anion. *J Hypertens*. 2001; 19:891-97. [PubMed: 11393672]

ROSSNER, P.; BOFFETTA, P.; CEPPI, M.; BONASSI, S.; SMERHOVSKY, Z.; LANDA, K.; JUZOVA, D.; SRÁM, R. J. Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer. *Environmental Health Perspectives*, 113 (5), 2005.

SANDBERG, A. A. Chromosome abnormalities in human cancer and leukemia. *Mutation Research*, 247: 231-240, 1991.

SINGH, N. P.; MCCOY, M. T.; TICE, R. R.; SCHNEIDER, E. L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175:184-191, 1988.

SZIRMAI, A. Cochleovestibular dysfunction caused by cerebrovascular diseases. *Int Tinnitus J.* 2005;11(1):63-5.

UCHIDA, T.; HASHIMOTO, M.; SUZUKI, N.; TAKEGAMI, T.; IWASE, Y. Smoking-induced body sway and its suppression by periodic saccades. *Neurosci Letters* 1980;18:219-224.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003. Disponível em <http://www.who.org> (acesso em agosto de 2007)

YU, R. C.; LEE, T.; WANG, T. C.; LI, J. Genetic toxicity of cocaine. *Carcinogenesis*, 20(7):1193-1199, 1999.

ANEXOS

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. Está sendo convidado a participar de um estudo científico denominado **NUTRIGENÉTICA E TABAGISMO: ESTUDOS IN VIVO E EX VIVO DA DIETA E ATIVIDADE FÍSICA NA MODULAÇÃO DOS EFEITOS PRÓ-OXIDANTES DO FUMO**. O **objetivo** do estudo quer comparar o estilo de vida e a genética entre indivíduos que fumam, deixaram de fumar e nunca fumaram. Este estudo é muito importante porque o fumo aumenta o risco de doenças como o câncer, o infarto, etc. e muitas vezes, mesmo que a pessoa saiba dos seus malefícios não consegue parar. Estudos anteriores feitos principalmente em outros países têm sugerido que fumar é muito influenciado pela genética (história familiar) do indivíduo. Ou seja, se o indivíduo tem pais, irmãos e avós que fumam ele possui mais chance de ser fumante do que se ele não tiver parentes fumantes. Esta condição faz com que sejam necessários estudos que busquem identificar fatores, que por sua vez podem ajudar a desenvolver tratamentos que possam ser utilizados para auxiliar os tabagistas a deixar o fumo. Sendo assim, a justificativa do estudo aqui proposto é que o mesmo irá incluir muitas pessoas (aproximadamente 2000) e se constituirá em um dos maiores estudos sobre tabagismo do Brasil que tenta verificar o estilo de vida e história familiar e genética associada ao tabagismo.

A sua participação no estudo acontecerá através da coleta de informações feita por um auxiliar da pesquisa que foi capacitado para interagir com o Sr(a). Na pesquisa serão feitas três tipos de coleta de informações: (1) inicialmente o Sr. (a) responderá uma entrevista com perguntas sobre a sua vida e sua saúde; (2) a seguir o auxiliar de pesquisa medirá a circunferência da sua cintura (para tanto pedirá que o Sr. coloque o dedo no umbigo que indica o local onde a medida será feita); (3) tomada a medida da circunferência o auxiliar de pesquisa, com o auxílio de uma lanceta (que é uma pequena agulha) dará uma pequena picada no seu dedo anular e coletará uma gota de sangue em um pequeno tubo de plástico. Para tanto, o auxiliar estará de luva, que será imediatamente descartada após o seu uso, e fará e limpará com álcool a região da picada antes e depois da coleta de sangue. O Sr(a). sentirá uma pequena dor e **desconforto** por causa da picada e uma pequena ardência quando for limpa a área com álcool. O sangue coletado será utilizado para averiguar um fator genético que está ligado ao combate dos radicais livres no organismo. Os exames feitos serão para ver como está o seu colesterol, glicose e outros marcadores de saúde. Os radicais livres são substâncias que “enferrujam” as nossas células e que precisam ser controlados através de compostos chamados antioxidantes. Existem alguns antioxidantes que o próprio corpo produz como a enzima superóxido dismutase dependente de manganês (SOD2) e existem antioxidantes que nós ingerimos através de dieta rica em frutas e vegetais. Existem estudos que mostram que variação neste gene em pessoas que comem pouca quantidade de frutas e verduras aumenta o risco de doenças. Entretanto, quando elas se alimentam corretamente este risco praticamente não existe. No nosso estudo queremos saber o que acontece quando a pessoa fuma e é portadora destas variações genéticas? Será que a alimentação e uma atividade moderada também diminuem o risco de doenças nos tabagistas que portam estas variações genéticas? É importante salientar que a **análise deste gene** não significará que o Sr.(a) irá desenvolver qualquer doença. É também importante lhe informar que o seu material genético (DNA) que ficar armazenado no laboratório só será utilizado o estudo de outros genes caso seja feito novo projeto, seja lhe informado e outro Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, semelhante a este seja assinado pelo Sr. O Sr(a). poderá ser convidado, em um segundo momento, para fazer exames adicionais de sangue e da sua condição cardiorrespiratória. No caso dos exames de sangue, será feita coleta através de uma pequena punção no braço o que poderá causar um pequeno desconforto no local. O exame da condição cardiorrespiratória (que avalia a capacidade do seu coração) será feito através de testes que envolvem exercício físico. Neste caso, o Sr.(a) poderá sentir aumento nos batimentos do coração, suor e se sentir um pouco cansado. É importante comentar que os **riscos da sua participação no estudo são mínimos ou inexistentes** sejam eles físicos ou emocionais. O principal

benefício esperado caso o Sr(a). participe do estudo é que o Sr.(a) estará fazendo uma checagem geral da sua saúde e receberá aconselhamento preventivo personalizado. Além disto, saberá que com a sua participação poderá estar ajudando muitas pessoas no futuro que se beneficiarão direta ou indiretamente com os resultados desta pesquisa. Com base nos resultados obtidos, caso seja detectada necessidade de uma consulta médica mais específica, o Sr(a). será orientado a procurar auxílio médico. **Durante todo o período do estudo o Sr(a) será acompanhado pelo grupo de pesquisa** que ficará a sua disposição para qualquer tipo de **esclarecimentos** que o Sr.(a) necessite envolvendo informações mais aprofundadas do que está sendo estudado e do modo (metodologia) de como está sendo feito o estudo. O Senhor pode optar em ser ou não informado sobre os resultados de laboratório que forem realizados. Para tanto, após ler este Termo nós iremos lhe questionar sobre este aspecto para anotarmos na sua pasta de dados (formulário). Há qualquer momento o **Sr.(a) poderá se recusar a participar da pesquisa ou retirar o seu consentimento** de uso das informações coletadas sem que ocorra nenhum tipo de prejuízo ao seu cuidado.

Todas as informações coletadas sejam elas através de entrevista sejam dos resultados laboratoriais serão **confidenciais**. Por este motivo o Sr(a) receberá um número de identificação que impedirá a associação entre as informações e a sua pessoa. **Para participar da pesquisa o Sr.(a) não terá nenhuma despesa financeira.**

Eu, _____, documento de identidade (RG) _____ declaro que concordo em participar do estudo **NUTRIGENÉTICA E TABAGISMO: ESTUDOS IN VIVO E EX VIVO DA DIETA E ATIVIDADE FÍSICA NA MODULAÇÃO DOS EFEITOS PRÓ-OXIDANTES DO FUMO** e que quando fui convidado a participar do mesmo me foi explicado e lido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do qual me foi fornecida uma cópia. Neste termo me foi explicado que: (1) as informações que forneci serão sigilosas e privadas; (2) que terei alguns desconfortos relacionados com a coleta de sangue e talvez com exames da função do coração; (3) que a qualquer momento poderei questionar ou pedir informações adicionais sobre o estudo; (4) que a qualquer momento poderei me retirar do estudo sem que ocorra nenhum prejuízo de atendimento ou outro a minha pessoa; (5) que não terei nenhuma despesa financeira relacionada com o estudo. (6) que a **pesquisadora responsável, Profa.Dra. Ivana Beatrice Manica da Cruz do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Maria** estará a minha disposição para responder qualquer tipo de questão no endereço: Departamento de Morfologia, Campus Universitário (UFSM). Av. Roraima, 1000 – Prédio 19, Sala 3126, telefone: 55-32208736, email: biogenomica.ufsm@gmail.com

Assinatura do voluntário

Nome por extenso, número de registro e assinatura do Auxiliar da Pesquisa

Assinatura dos Pesquisadores Responsáveis
 – Profa.Dra. Ivana Beatrice Manica da Cruz
 - Profa.Dra. Maria Izabel Ugalde Marques da Rocha
 - Prof Dr Juan Pablo Barrio Lera

ANEXO B - PROTOCOLO DE ANAMNESE

Anamnese

Identificação

Nome: _____ Data: _____
 Idade: _____ Data de Nascimento: _____ Sexo: _____
 Profissão: _____ Telefone: _____
 Endereço: _____
 Usuário de tabaco? Sim () Não ()
 Quantidade consumida diariamente? _____
 Marca do tabaco? _____
 Tempo de exposição ao fumo? _____

Sintomas:

- | | |
|---|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Ondas de calor | <input type="checkbox"/> Estresse |
| <input type="checkbox"/> Palpitação | <input type="checkbox"/> Insônia |
| <input type="checkbox"/> Enjôo | <input type="checkbox"/> Pressão alta |
| <input type="checkbox"/> Cefaléia | <input type="checkbox"/> Irritação |
| <input type="checkbox"/> Ansiedade | <input type="checkbox"/> Depressão |

Tontura?

sim Não Início: _____
 Ocorrência: esporádica () freqüente () muito freqüente ()
 Duração das crises: segundos () minutos () horas () dias ()
 Sensação de que a crise vai ocorrer? _____
 Sensação de que os objetos giram ao seu redor? _____
 Sensação de girar no ambiente com os objetos estacionários? _____
 Surge ou piora:
 Com movimentos de cabeça () Ao olhar para o lado () Em veículos em
 Movimento () Em determinada posição ou mudança de posição do corpo ()
 Sensação:
 De instabilidade () De desmaio () De flutuação () Pressão na cabeça ()
 Perda da consciência () Escurecimento da visão () Desequilíbrios à marcha ()
 Náuseas () Vômitos () Sudorese () Palidez () Quedas () Palpitações ()
 Tendência à queda:
 Direita () Esquerda () Para frente () Para trás ()
 Desvio à marcha:
 Para a direita () Para a esquerda ()
 Fatores desencadeantes: _____
 Fatores de melhora: _____

Queixa de perda auditiva? sim Não

Início: _____
 Orelha direita () Orelha esquerda ()
 Variação da audição durante as crises? Sim () Não ()

Hipersensibilidade a sons () Distorção dos sons ()
 Sensação de líquido no ouvido () Dificuldade para entender o que se fala ()
 Exposição a ruído? Sim () Não ()

Zumbido? Sim () Não ()

Início: _____

Localização: OD () OE () Próximo ao ouvido () Na cabeça ()

Tipo: Contínuo () Pulsátil () Súbito ()

Constante () Variável () Em crises ()

Fatores desencadeantes? _____

Fatores de melhora? _____

Antecedentes pessoais:

Doenças da Infância () Diabetes () Distúrbios da Tireóide ()

Distúrbios Menstruais () Distúrbios Cardíacos () Pressão Arterial Alta ()

Pressão Arterial Baixa () Cirurgias () Doenças de Ouvido, Nariz e Garganta ()

Tratamentos Anteriores: _____

Medicamentos em uso: _____

Antecedentes familiares:

Tontura () Perda Auditiva () Zumbido () Diabetes ()

Hipertensão Arterial () Enxaqueca () Distúrbios Cardiovasculares ()

ANEXO C - PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM DISTÚRBIOS DA COMUNICAÇÃO HUMANA
AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA**

Nome: _____ Gênero: ()M ()F

Data de Nascimento: ___/___/_____ Idade: _____ Profissão: _____

Endereço: _____ Fone : (____)____-____

Data da Avaliação: ___/___/_____ Fone : (____)____-____

Examinadora: Fga. Daniele Coronel Mena Barreto – CRFa 9105 – RS
AUDIOMETRIA TONAL LIMINAR

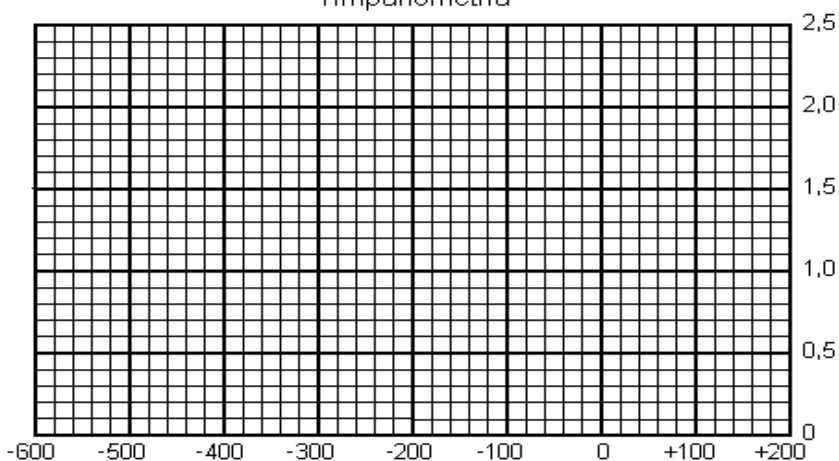
	250 Hz	500 Hz	1000 Hz	2000 Hz	3000 Hz	4000 Hz	6000 Hz	8000 Hz
VA OD								
VO OD	-						-	-
VA OE								
VO OE	-						-	-

LOGO AUDIOMETRIA

Orelha Direita	Orelha Esquerda
LRF: _____ dB	LRF: _____ dB
IPRF: _____ dB _____ %	IPRF: _____ dB _____ %

MEDIDAS DE IMITÂNCIA ACÚSTICA

Timpanometria



Reflexo Acústico

Freq	Orelha Direita					Orelha Esquerda				
	Limiar	Contra	Difer	Ipsi	Decay	Limiar	Contra	Difer	Ipsi	Decay
500										
1000										
2000										
3000										
4000										
	(sonda OE)					(sonda OD)				

ANEXO D - PROTOCOLO DE POSTUROGRAFIA DINÂMICA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM DISTÚRBIOS DA COMUNICAÇÃO HUMANA**

POSTUROGRAFIA

1

Nome: _____ Gênero: ()M ()F

Data de Nascimento: ___/___/___ Idade: ___ Profissão: _____

Endereço: _____ Fone : (___) _____

Data da Avaliação: ___/___/___ Cel : (___) _____

Examinadora: Fga. Daniele Coronel Mena Barreto – CRFa 9105 – RS

Distância	TOS I	TOS II	TOS III	TOS IV	TOS V	TOS VI

Nome: _____ Gênero: ()M ()F

Data de Nascimento: ___/___/___ Idade: ___ Profissão: _____

Endereço: _____ Fone : (___) _____

Data da Avaliação: ___/___/___ Cel : (___) _____

Examinadora: Fga. Daniele Coronel Mena Barreto – CRFa 9105 – RS

Distância	TOS I	TOS II	TOS III	TOS IV	TOS V	TOS VI

Nome: _____ Gênero: ()M ()F

Data de Nascimento: ___/___/___ Idade: ___ Profissão: _____

Endereço: _____ Fone : (___) _____

Data da Avaliação: ___/___/___ Cel : (___) _____

Examinadora: Fga. Daniele Coronel Mena Barreto – CRFa 9105 – RS

Distância	TOS I	TOS II	TOS III	TOS IV	TOS V	TOS VI

ANEXO E - PROTOCOLO DE ANÁLISE DO TESTE COMETA

Identificação: _____ Data da Análise: ____/____/2009
 Paciente: _____

Lâmina 1 / Analista 1: _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										

Cálculo do Índice de Dano	
0x	=
1x	=
2x	=
3x	=
4x	=
Somatório	=

Lâmina 1 / Analista 2: _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										

Cálculo do Índice de Dano	
0x	=
1x	=
2x	=
3x	=
4x	=
Somatório	=

Lâmina 2 / Analista 1: _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										

Cálculo do Índice de Dano	
0x	=
1x	=
2x	=
3x	=
4x	=
Somatório	=

Lâmina 2 / Analista 2: _____

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										

Cálculo do Índice de Dano	
0x	=
1x	=
2x	=
3x	=
4x	=
Somatório	=

ANEXO F- PROTOCOLO DE ANÁLISE DO TESTE MICRONÚCLEO

Identificação: _____ Data da Análise: ____/____/2009
 Paciente: _____

Lâmina 1 / Analista 1: _____

1	
2	
3	
P	

Centos	1	2	3	4	5
	6	7	8	9	10
Resultado	_____				

Lâmina 1 / Analista 2: _____

1	
2	
3	
P	

Centos	1	2	3	4	5
	6	7	8	9	10
Resultado	_____				

Lâmina 2 / Analista 1: _____

1	
2	
3	
P	

Centos	1	2	3	4	5
	6	7	8	9	10
Resultado	_____				

Lâmina 2 / Analista 2: _____

1	
2	
3	
P	

Centos	1	2	3	4	5
	6	7	8	9	10
Resultado	_____				

ANEXO G - TERMO DE CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS DA PESQUISA

**TERMO DE CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS DA PESQUISA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA/RS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FONOAUDIOLOGIA
CURSO DE FONOAUDIOLOGIA**

Pesquisadores responsáveis:

Autora/Executora: Fga. Daniele Coronel Mena Barreto

Orientador: Prof. Dr. Aron Ferreira da Silveira

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Ivana Beatrice Manica da Cruz

Co-autora: Prof^a Dr^a Ângela Garcia Rossi

Telefone: (55) 99340375 E-mail: danimbarreto@hotmail.com

TERMO DE CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS DA PESQUISA

Os pesquisadores responsáveis pelo projeto **“Associação Entre os Distúrbios do Equilíbrio, Tabagismo e Indicadores de Dano no DNA”** Prof. Dr. Aron Ferreira da Silveira, Prof^a Dr^a Ivana Beatrice Manica da Cruz, Prof^a Dr^a Ângela Garcia Rossi e a Fga. Daniele Coronel Mena Barreto comprometem-se a guardar sigilo sobre a identidade dos participantes do estudo.

Prof. Dr. Aron Ferreira da Silveira

Prof^a Dr^a Ivana Beatrice Manica da Cruz

Fga. Daniele Coronel Mena Barreto

Prof^a Dr^a Ângela Garcia Rossi

ANEXO H – QUESTIONÁRIO DO PROJETO “NUTRIGENÉTICA E TABAGISMO: ESTUDOS *IN VIVO* E *EX VIVO* DA DIETA E ATIVIDADE FÍSICA NA MODULAÇÃO DOS EFEITOS PRÓ-OXIDANTES DO FUMO”

1.DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO VOLUNTÁRIO NA PESQUISA-MODELO

Instruções: O questionário deve ser preenchido individualmente, e deve ser preenchido pelo entrevistador

Determine o número de registro do voluntário e NÃO ESQUEÇA DE ESCREVER ESTE NÚMERO NO TCLE!

TAMBÉM ESCREVA o número de registro do voluntário **nos quadros em branco** que está no canto superior direito da página.

Nome do coletador:

_____ **Número coletador:**

Assinatura do coletador:

_____ **Rubrica:** _____

Data da coleta: ____/____/2008. **Horário do início da aplicação do instrumento:** _____

Determinação do Número Final de Identificação do Voluntário:

Sexo (1-homem , 2 –mulher) = ____ (1 dígito)

Grupo: **1**-tabagista (fumou no mínimo 100 cigarros nos últimos 90 dias), **2**-não-tabagista (nunca experimentou tabaco), **3**-ex-tabagista com mais ou igual a 10 anos de abandono- , **4**- Já experimentou tabaco **mas** nunca fumou de modo constante, **5**- fuma esporadicamente, em festas ou outras ocasiões, sem que este hábito ultrapasse 100 cigarros em um período de 90 dias), **6**- abandonou o fumo a menos de dez anos= ____ (1 dígito)

Procedência (1-Servidor/aluno, 2-Comunidade, 3-Hospital, 4-Outro)= ____ (1 dígito)

Número do coletador= ____ (três dígitos)

Número linear dado pelo coletador = ____ (três dígitos)

REGISTRO FINAL (09 DIGITOS): ____ - ____ - ____

2. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO VOLUNTÁRIO E DO PERFIL SÓCIOECONOMICO CULTURAL

Instruções:

Preencha as informações solicitadas .

Para as questões categóricas marque um CÍRCULO no número da informação correta. Em caso de erro, faça um X sobre este circulo, rubrique e marque o CÍRCULO na informação correta.

ATENÇÃO SE ERRAR ALGUMA INFORMAÇÃO NÃO RASURE!. Coloque um traço sobre a informação. Rubrique e escreva a informação correta, novamente (na parte superior ou inferior do local onde a mesma deveria ser redigida). Utilize o número 99 em caso de informações **NÃO APLICÁVEIS**. Por exemplo: idade da menarca (homens não têm menarca!)

Nome do voluntário

Endereço para contato: _____

Telefone: _____

Município de residência: _____

Naturalidade (Município-Estado): _____

Email: _____

Data de Nascimento: ____/____/____. **Sexo:** (0) Masculino (1) Feminino

Estado civil: (0) Casado/União Estável (1) Solteiro (2) Viúvo (3) Divorciado, desquitado (4) Outros

Renda (Salários Mínimos): (0) própria (1) Da família (2) Outra (bolsa, estágio, etc.)

Situação Funcional: (0) Trabalhador/Autônomo (1) Aposentado (2) Estudante (3) Atividades sem renda própria. Ex. do lar

O Sr.(a) ou o seu mantenedor, ou sua família possui: **Moradia:** (0) Própria (1) Alugada (2) Outros

Escolaridade (anos de estudos aprovados): (0) Não estudou (1) < 3 anos (2) < 8 anos (3) 8 a ≤ 12 anos (4) >12

Instrução: Pergunte ao voluntário até que nível ele estudou. Após, estime o número de anos estudados. Considere indivíduos que fizeram supletivo de 1º grau como 8 anos de estudo e de 2º grau como 8 a 12 anos de estudo.

3. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO VOLUNTÁRIO

Instrução: Informação autorelatada pelo voluntário.

Peso: _____ (em quilos, ex. 72,5) **Altura:** _____ (em metros, ex. 1,73)

Instruções: (1) solicite que o voluntário fique de pé, com os pés juntos; (2) solicite que o voluntário coloque a mão no umbigo por cima das vestimentas; (3) tomando o umbigo como referência meça a circunferência abdominal com a fita métrica. Anote este número em centímetros.

Medida da circunferência abdominal (em centímetros): _____

3.1 Características Biológicas e Saúde Feminina:

Instrução: No caso dos homens ou de mulheres que não entraram ainda na menopausa preencher os itens não aplicáveis com o **número 99**.

Menarca (idade): _____ **Número de filhos:** _____ **Menopausa (idade):** _____

Uso de anticoncepcionais hormonais: (0) Usa (1) Nunca usou (2) Já usou

Uso de reposição hormonal: (0) Usa (1) Nunca usou (2) Já usou

Idade que iniciou o uso de reposição hormonal: _____

4. CARACTERÍSTICAS DO ESTILO DE VIDA

4.1 Comportamento dietético

Toma café-da-manhã: (0) Regularmente (1) Às vezes (2) Não toma

Freqüência que come algum tipo de fruta (suco, in natura) ou verduras e legumes:

(0) \geq 5 dias na semana (1) 3-4 dias (2) $<$ 3 dias

Freqüência que come algum tipo de doce (sobremesa, chocolate, balas), salgadinhos, bolachinhas:

(0) \geq 5 dias na semana (1) 3-4 dias (2) $<$ 3 dias

Freqüência que come carne nas refeições (gado, porco, aves, peixes)

(0) \geq 5 dias na semana (1) 3-4 dias (2) $<$ 3 dias

Freqüência que toma café preto (além do café da manhã que não deve ser contado)

(0) diária (1) eventual (2) não toma

Se toma diariamente, quantas xícaras de cafezinho por dia _____

Freqüência que toma chimarrão ou chá:

(0) diária (1) eventual (2) não toma

4.2 Comportamento de Atividade Física e Perfil Laboral

Qual a sua profissão ou curso?

Você trabalha/estuda sentado a maior parte do tempo? (0) Sim (1) Não

Quantas horas diárias permanece sentado nestas atividades? _____

Nos últimos seis meses participou de atividade física regular por pelo menos duas vezes na semana?

(0) Sim (1) Não

Qual?

(0) Caminhada orientada (1) Musculação (2) Atividade aeróbica (3) Musculação+ aeróbica (4) Esportes como natação, futebol, vôlei, etc. (5) Outros.

Quantas vezes na semana? _____ Tempo que gasta? (0) < 1 hora (1) ≥ 1 hora

Peça para ele distribuir o seus hábitos cotidianos de segunda a sexta, nos últimos seis meses, conforme as atividades listadas de tal monta que feche 24 horas.

Atividades	Horas
Dormindo	
<u>Sentado</u> (estudando, trabalhando, vendo tv, acessando o computador, fazendo tricô, lendo jornal, deslocando de carro ou outro meio de transporte, etc).	
<u>Demais atividades em pé se deslocando ou permanecendo no mesmo lugar</u> para o trabalho, no trabalho, supermercado, bancos, lavando louça, cozinhando, passando roupa, fazendo a higiene pessoal e outras atividades relacionadas. <u>Realizando atividades</u> que façam o Sr(a) correr, suar, aumentar os batimentos cardíacos como em trabalhos domésticos, ao lavar roupa a mão, ao limpar a casa (varrer, passar aspirador de pó, etc.), no seu trabalho diário, fazendo algum esporte (futebol, fazer academia, etc.).	
Total	24

Instrução: Cuidar para os voluntários não considerarem como atividade sentada somente trabalho e estudo! Em caso de indivíduos que declarem realizar mais de 6 horas se deslocando ou permanecendo de pé no mesmo lugar, peça para que ele revise esta questão e elencando que tipo de atividade ele realiza!

5. PERFIL DE SAÚDE E USO DE FÁRMACOS

5.1 Doenças crônicas não-transmissíveis prévias

Algum médico já lhe disse que o Sr (a) tem alguma destas doenças?

Hipertensão (pressão alta)	(0) Sim (1) Não	Depressão	(0) Sim (1) Não
Diabetes mellitus	(0) Sim (1) Não	Úlcera	(0) Sim (1) Não
Dislipidemia (colesterol alto)	(0) Sim (1) Não	Constipação (prisão de ventre)	(0) Sim (1) Não
Infarto agudo do miocárdio	(0) Sim (1) Não	Alergia	(0) Sim (1) Não.
Angina (dor no peito)	(0) Sim (1) Não	Trombose, Insuficiência cardíaca	(0) Sim (1) Não
Derrame (AVC)	(0) Sim (1) Não	Câncer Qual?	(0) Sim (1) Não
Asma, bronquite, enfisema	(0) Sim (1) Não	Idade?	
Artrite, reumatismo	(0) Sim (1) Não		
Problemas emocionais	(0) Sim (1) Não		

5.2 Doenças infecto-parasitárias prévias DE FORMA ESPORADICA de medicamentos nos últimos SEIS MESES.

O Sr.(a) apresentou alguma doença viral ou infecciosa nestes últimos 6 meses (gripe, diarreia, infecção de garganta, ouvido, etc)? (0) Sim (1) Não

Fez uso de antibióticos? (0) Sim (1) Não Fez uso de anti-inflamatório? (0) Sim (1) Não

Fez uso de medicamentos para a febre, dor ou relaxante muscular? (0) Sim (1) Não

Fez uso de medicamentos para dormir (diazepan ou outros)? (0) Sim (1) Não

Fez uso de medicamentos para permanecer acordado, ou atento, como por exemplo ritalina? (0) Sim (1) Não

5.3 Polifarmácia (MAIS DE SEIS MESES)

Usa medicação diária para alguma doença crônica? (0) Sim (1) Não

Nº de medicações ingeridas diariamente no mínimo há seis meses (exceto anticoncepcional e reposição hormonal)? _____

Usa ou já usou medicação por indicação médica para depressão, ansiedade, estresse ou outro distúrbio psicológico? (0) Sim (1) Não

Indicação do medicamento

(0) Hipertensão (1) Diabetes (2) Colesterol (3) Coração (4) Neoplasia (câncer)

(5) Osteoporose (6) Hiperatividade

(7) Anti-inflamatório (8) Outros. Coloque os números marcados em seqüência _____

Obs:* Se o voluntário toma mais que um tipo coloque os números em seqüência. Por exemplo: Medicação para hipertensão, coração, osteoporose – 035

5.4 Indicadores de saúde auditiva e visual

Como você define a sua audição? (0) Excelente (1) Boa (2) Regular (3) Ruim
(Se o voluntário relatar problemas de audição em um dos ouvidos considere este como referência para classificar a audição).

Você tem zumbidos? (0) Os zumbidos aparecem constantemente. (1) Às vezes em determinadas situações. (2) Não tem zumbidos.

Instrução: Se o voluntário relatar que tem zumbido apenas em um dos ouvidos considere este como referência para classificar a audição

Como você define a sua visão (0) Excelente (1) Boa (2) Regular (3) Ruim

6. TABAGISMO

O Sr(a) convive com fumantes no seu dia a dia permanecendo em ambiente com fumaça de cigarro por mais de 04 horas ao dia? (0) Sim (1) Não

(Aplique esta etapa somente para ex-fumantes, fumantes e fumantes esporádicos.)

Idade que começou a fumar? _____

Por quanto tempo (anos) parou de fumar ainda que tenha retornado? _____

Quantas vezes o Sr(a) tentou parar de fumar?

(1) Nunca tentou (2) < 3 vezes (3) Muitas vezes

Qual a marca comercial de cigarro dos últimos seis meses? _____.

Instrução: a partir da marca relatada identifique a quantidade de nicotina e alcatrão e anote aqui estas concentrações:

Nicotina: _____ **Alcatrão:** _____

Valor (reais) da carteira de cigarros: R\$ _____

Se o Sr.(a) é ex-fumante há quantos tempo parou de fumar?

Instrução: Aplique o Teste Fagerstrom para fumantes e fumantes esporádicos

Teste de Fagerstrom	
F1- Quantos cigarros você fuma por dia?	De 1 a 10 = 0 ponto De 11 a 20 = 1 ponto De 21 a 30 = 2 pontos Acima de 31 = 3 pontos
F2- Após acordar, quanto tempo você demora até fumar o primeiro cigarro?	Após 1 hora = 0 ponto Entre meia e uma hora = 1 ponto De 6 a 30 minutos = 2 pontos Até 5 minutos = 3 pontos
F3- Você acha difícil parar de fumar em lugares proibidos como cinemas e ônibus?	Sim = 1 ponto Não = 0 ponto
F4- Qual cigarro do dia lhe traz mais satisfação?	O primeiro que fuma pela manhã = 1 ponto Outros = 0 ponto
F5- Você fuma mais durante a manhã do que no resto do dia?	Sim = 1 ponto Não = 0 ponto
F6- Você fuma mesmo doente?	Sim = 1 ponto Não = 0 ponto
F7- Já tentou parar de fumar?	Sim = 1 ponto Não = 0 ponto
Inala (traga) o fumo?	(1) Sim (2) Não (3) As Vezes

7. CAGE (Aplique para tabagistas, ex-tabagistas, não-tabagistas).

Você costuma beber algum tipo de bebida alcoólica mais que uma vez mês? (0) Sim (1) Não

Instrução: Caso a resposta seja afirmativa (SIM), pergunte ao voluntário as questões abaixo:

C1-Alguma vez o(a) senhor(a) sentiu que deveria diminuir a quantidade de bebida alcoólica ou de parar de beber?	C2-As pessoas o(a) aborrecem porque criticam o seu modo de tomar bebida alcoólica?	C3-A senhor (a) se chateia consigo mesmo(a) pela maneira como costuma tomar bebida alcoólica?	C4-Costuma tomar bebidas alcoólicas pela manhã para diminuir o nervosismo ou ressaca?
(0) Sim (1) Não	(0) Sim (1) Não	(0) Sim (1) Não	(0) Sim (1) Não

8. HISTÓRIA FAMILIAR LONGEVIDADE, ADIÇÃO E DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSÍVEIS.

	Pai	Mãe	Avô Paterno	Avó Paterna	Avô Materno	Avó Materna
Está vivo?	(0) Sim (1) Não	(0) Sim (1) Não	(0) Sim (1) Não	(0) Sim (1) Não	(0) Sim (1) Não	(0) Sim (1) Não
Idade atual						

Idade do óbito (décadas)						
--------------------------	--	--	--	--	--	--

Instrução: Por exemplo, morreu com 63 ou 67 anos, coloque 60 na década, não coloque o ano exato do óbito. Sempre que não souber a informação coloque NS (não sabe) e digite 3 na tabela do Excel.

Instrução: Para responder as questões abaixo, formule a seguinte pergunta geral: *O Sr(a) conhece alguém na sua família que tem história de _____ Quem? Pai, mãe, avô? _____ Não sabe ou não tem?*
Caso exista mais de um grupo familiar afetado, NO MOMENTO DA TRANSPOSIÇÃO DAS INFORMAÇÕES PARA A PLANILHA ELETRÔNICA, EXCEL, coloque o número de cada grupo em ordem seqüencial, sem vírgulas entre os mesmos. Ex. Pai, irmão e avó afetados por hipertensão: 12.

Condição	História Familiar – Observação: <i>coloque os números em seqüência em caso de existirem mais que um grupo familiar afetado. Ex. Tabagismo: pai e avô: 12</i>
Alcoolismo	(0) Não existe ou desconhece (1) Pai, Mãe ou Irmãos (2) Pelo menos um avô (materno ou paterno)
Tabagismo	(0) Não existe ou desconhece (1) Pai, Mãe ou Irmãos (2) Pelo menos um avô (materno ou paterno)
Jogador compulsivo	(0) Não existe ou desconhece (1) Pai, Mãe ou Irmãos (2) Pelo menos um avô (materno ou paterno)
Obesidade	(0) Não existe ou desconhece (1) Pai, Mãe ou Irmãos (2) Pelo menos um avô (materno ou paterno)
Hipertensão	(0) Não existe ou desconhece (1) Pai, Mãe ou Irmãos (2) Pelo menos um avô (materno ou paterno)
Doença cardiovascular	(0) Não existe ou desconhece (1) Pai, Mãe ou Irmãos (2) Pelo menos um avô (materno ou paterno)
Doença neurodegenerativa	(0) Não existe ou desconhece (1) Pai, Mãe ou Irmãos (2) Pelo menos um avô (materno ou paterno)
Câncer	(0) Não existe ou desconhece (1) Pai, Mãe ou Irmãos (2) Pelo menos um avô (materno ou paterno)

Observação: doença cardiovascular (infarto, angina, insuficiência cardíaca, derrame); doença neurodegenerativa (demência como Alzheimer (perda da memória, não lembra)), Parkinson, esclerose, ou outra condição)

9. INDICADORES DE DEPRESSÃO, ANSIEDADE, ESTRESSE E MEDO

9.1 Nestes últimos seis meses você sentiu estressado mais do que três vezes na semana **sem nenhum motivo aparente?**

(0) Sim (1) Não

9.2 Nestes últimos seis meses você sentiu triste ou deprimido mais do que três vezes na semana **sem nenhum motivo aparente**? (0) Sim (1) Não

9.3 Nestes últimos seis meses você sentiu ansioso mais do que três vezes na semana **sem nenhum motivo aparente**?

(0) Sim (1) Não

9.4. Você já fez/faz tratamento psicológico ou psiquiátrico? (0) Sim (1) Não

9.5 Enumere no máximo 3 medos ou situações que você evita:

_____,
_____,
_____.

Não lembro de nenhum medo ()

Instrução: Peça ao entrevistado que preencha a tabela da página seguinte marcando com um "X" e o mais rápido possível. Anote o tempo de preenchimento em segundos no espaço abaixo.

Horário de início: _____

Horário de término: _____

10. Escala de Barrat

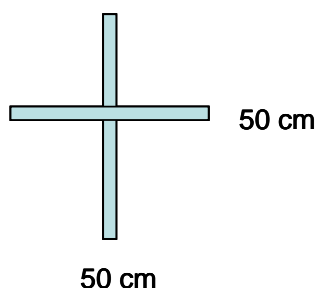
	Raramente, nunca	Às vezes	Frequentemente	Sempre ou quase sempre
1. Eu planejo minhas atividades com cuidado				
2. Eu faço coisas sem pensar				
3. Eu sou despreocupado, "cuca fresca"				
4. Meus pensamentos são rápidos				
5. Eu planejo minhas saídas ou passeios com antecedência				
6. Eu sou uma pessoa controlada				
7. Eu me concentro com facilidade				
8. Eu tenho facilidade para economizar dinheiro				
9. Eu acho difícil ficar sentado por muito tempo				
10. Eu costumo pensar com cuidado em tudo				
11. Eu quero ter um trabalho fixo para poder pagar minhas despesas				
12. Eu falo as coisas sem pensar				
13. Eu gosto de ficar pensando sobre				

problemas complicados				
14. Eu troco de trabalho freqüentemente				
15. Eu faço as coisas no impulso				
16. Eu me canso com facilidade tentando resolver problemas mentalmente de cabeça				
17. Eu me cuido pra não ficar doente				
18. Eu faço as coisas no momento em que penso				
19. Eu tento pensar em todas as possibilidades antes de tomar uma decisão				
20. Eu troco de casa com freqüência ou não gosto de viver no mesmo lugar por muito tempo				
21. Eu compro coisas impulsivamente sem pensar				
22. Eu termino o que eu começo				
23. Eu caminho e me movimento rápido				
24. Eu resolvo os problemas por tentativa e erro				
25. Eu gasto mais do que ganho ou que posso				
26. Eu falo rápido				
27. Enquanto estou pensando em uma coisa é comum que outras idéias me venham à cabeça ao mesmo tempo				
28. Eu me interesso mais pelo presente do que pelo futuro				
29. Eu me sinto inquieto em aulas e palestras				
30. Eu faço planos para o futuro				

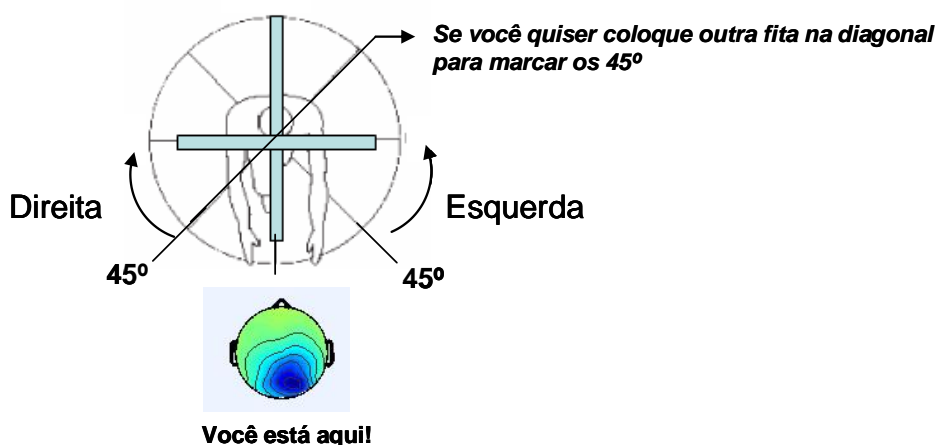
10. INDICADORES DE EQUILÍBRIO

10.1 Teste de Unterberger

- (1) Com uma fita crepe faça uma cruz no chão (~50 cm cada fita)



- (2) Posicione o voluntário bem no meio da cruz e se posicione na frente dele considerando a direita e a esquerda do voluntário.



- (3) Solicite que ele estenda os braços para frente, feche os olhos e marche sem sair do lugar contando 30 passos levantando bem os joelhos. Mostre a ele o que tem que ser feito. O voluntário pode optar em realizar o teste com ou sem calçados. **O voluntário é que conta não o pesquisador!**



- (4) No final dos 30 passos observe se (marque com um X):

- (1) Desviou menos que 45°
 (2) Desviou mais que 45°
 (3) Desviou foi: (1) para direita (2) para a esquerda

Horário do término da aplicação do instrumento: _____

OBSERVAÇÕES:

ANEXO I – CARTA DE APROVAÇÃO

 <p>MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)</p>	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa Comitê de Ética em Pesquisa - CEP- UFSM REGISTRO CONEP: 243</p> 
--	---

CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Estudos in vivo e ex vivo da dieta e atividade física na modulação dos efeitos pró-oxidantes do fumo.

Número do processo: 23081.012293/2007-03

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0146.0.243.000-07

Pesquisador Responsável: Ivana Beatrice Manica da Cruz

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Dezembro/2008	Relatório parcial
Dezembro/2009	Relatório parcial
Dezembro/2010	Relatório parcial
Dezembro/2011	Relatório final

Os membros do CEP-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA REUNIÃO DE APROVAÇÃO: 09/10/2007

Santa Maria, 18 de outubro de 2007.



Prof. Dr. Carlos Ernando da Silva
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM
Registro CONEP N. 243.