



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Karine Pereira Albuquerque

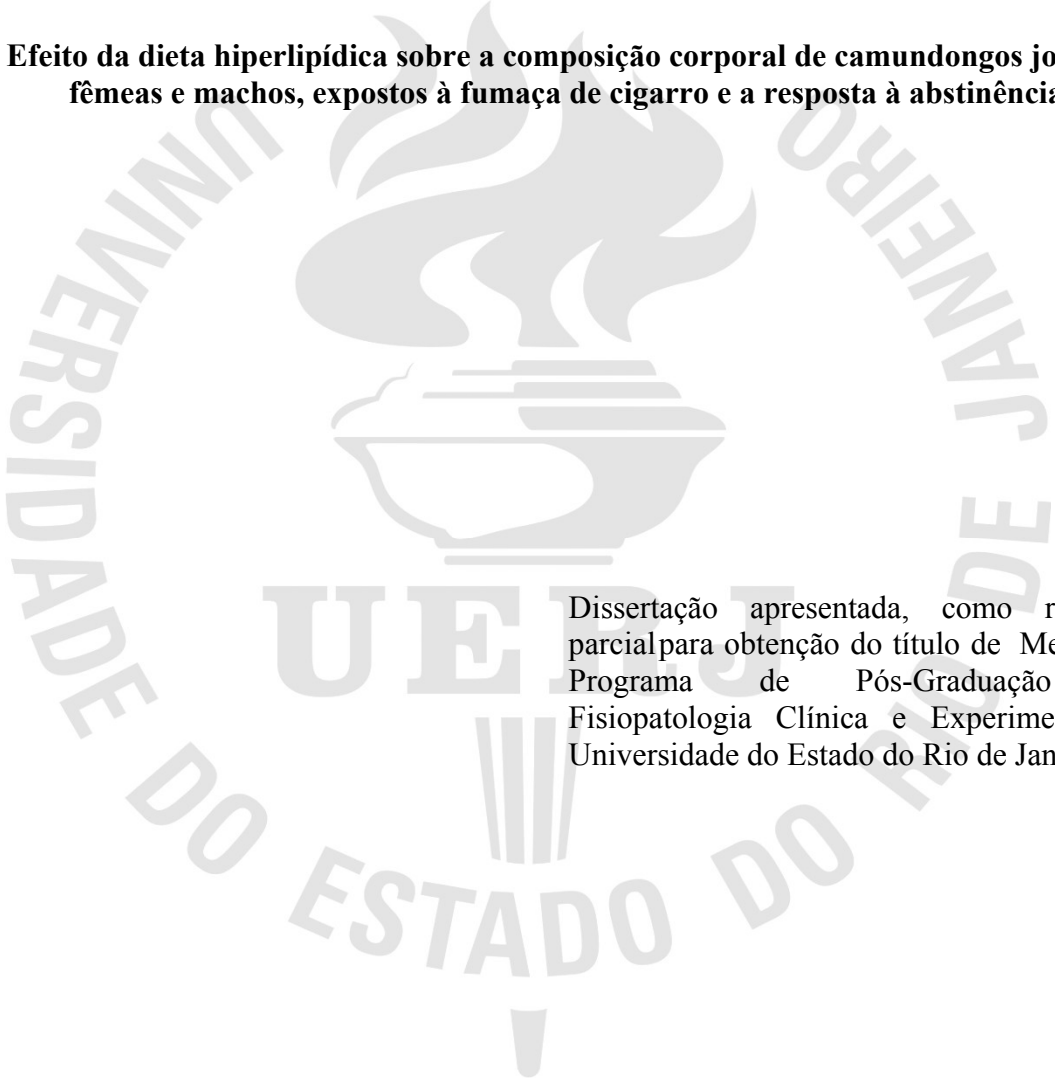
Efeito da dieta hiperlipídica sobre a composição corporal de camundongos jovens, fêmeas e machos, expostos à fumaça de cigarro e a resposta à abstinência

Rio de Janeiro

2017

Karine Pereira Albuquerque

Efeito da dieta hiperlipídica sobre a composição corporal de camundongos jovens, fêmeas e machos, expostos à fumaça de cigarro e a resposta à abstinência



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Orientadora: Prof.^a Dra. Celly Cristina Alves do Nascimento Saba

Rio de Janeiro

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

A345 Albuquerque, Karine Pereira.
Efeito da dieta hiperlipídica sobre a composição corporal de camundongos jovens, fêmeas e machos, expostos à fumaça de cigarro e a resposta à abstinência / Karine Pereira Albuquerque. – 2017.
92 f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Celly Cristina Alves do Nascimento Saba

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Dieta hiperlipídica – Efeitos adversos – Teses. 2. Composição corporal – Teses. 3. Poluição por fumaça de tabaco – Efeitos adversos – Teses. 4. Fenômenos fisiológicos da nutrição do adolescente. 5. Síndrome de abstinência a substâncias. I. Saba, Celly Cristina Alves do Nascimento. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 613.96

Bibliotecário: Felipe Caldonazzo CRB7/7341

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Karine Pereira Albuquerque

Efeito da dieta hiperlipídica sobre a composição corporal de camundongos jovens, fêmeas e machos, expostos à fumaça de cigarro e a resposta à abstinência

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 30 de maio de 2017.

Orientadora: Celly Cristina Alves do Nascimento Saba
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - IBRAG

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Gabrielle de Souza Rocha
Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Viviane Younes Rapozo
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Prof. Dr. Anderson Ribeiro Carvalho
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Rio de Janeiro

2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, por tudo que já vivemos e ainda viveremos, por todo esforço, amor e dedicação que até hoje recebo integralmente, certa de que toda vitória minha, é deles também. E ainda, ao meu marido, por ser incondicionalmente meu companheiro e me ajudar a escrever cada página de nossas vidas, repletas de sonhos e esperanças.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Celly Saba, pela oportunidade e acolhimento em seu grupo de pesquisa, desde a Iniciação Científica até então, e pelo apoio e compreensão nos momentos mais difíceis.

Às minhas companheiras de laboratório, Aline e Cynthia, por serem meu suporte no dia-a-dia. Aline, por sua co-orientação ainda na monografia, onde aprendi muito do que sei em relação a nossa profissão. E Cynthia, por todo auxílio, técnico e psicológico, nesta etapa final, sem a qual certamente tudo seria mais difícil.

À técnica Andréa pela disponibilidade em me auxiliar sempre que precisasse, bem como aos demais funcionários do departamento de Ciências Fisiológicas, sempre solícitos e cordiais.

E, de maneira indireta na realização deste trabalho, agradeço aos meus pais, por serem meu abrigo nas horas mais difíceis, em especial minha mãe, a mulher mais guerreira e sábia que já conheci. Agradeço por toda nossa vida e nosso convívio, e por me tornarem quem hoje sou.

Ao meu amigo, parceiro, companheiro e marido, Davi, por ter escrito cada palavra comigo através de seus abraços e suas palavras de afeto. Por ter suportado este período de aflições e por todo amor e confiança.

À amiga Hayandra, representando meus amigos, por toda dedicação e exemplo de que tudo é possível, por ser o meu refúgio e uma das pessoas que mais me incentiva a continuar. Aos demais, por toda alegria e momentos maravilhosos que me proporcionam.

E, em especial, à Deus, pelo seu sustento e amparo, pela sua bondade em minha vida, e por enviar pessoas incríveis para me ajudar a concluir mais esta etapa da vida.

RESUMO

ALBUQUERQUE, Karine Pereira. **Efeito de dieta hiperlipídica sobre a composição corporal de camundongos jovens, machos e fêmeas, expostos à fumaça de cigarro e a resposta à abstinência.** 2017. 92 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

Mudanças no padrão nutricional, incluindo o aumento do consumo de lipídios na dieta, principalmente associado aos óleos vegetais, estão diretamente relacionados a distúrbios consequentes do desenvolvimento de sobrepeso e obesidade. Outro fator prejudicial à qualidade de vida, que afeta em níveis consideráveis os jovens, é o tabagismo. Portanto, a associação desses dois fatores representa um agravo à saúde. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de dieta hiperlipídica, contendo óleo de soja, sobre a ingestão alimentar e a composição corporal de camundongos jovens, fêmeas e machos, expostos à fumaça de cigarro durante a adolescência, assim como a resposta à abstinência na vida adulta. A partir do desmame, 21 dias pós-natal, até o final do período experimental, os animais foram alimentados com dietas manufaturadas normo- (7S) e hiperlipídica (19S). Dos 35 aos 50 dias pós-natal, metade dos animais foi exposta à fumaça de cigarro (F) e a outra metade permaneceu em ar ambiente (C). Ao final, uma parte dos animais foi eutanasiada e outra permaneceu em abstinência por 30 dias (ABS). Em todas as etapas foram avaliadas a ingestão alimentar, a massa e a composição corporal. Sangue e tecidos adiposos visceral e subcutâneo foram coletados para análise. Nas fêmeas, durante a exposição à fumaça, a ingestão alimentar foi semelhante a do grupo C19S e o ganho de massa corporal foi menor nos animais F19S. Na abstinência, o grupo F19S apresentou a maior ingestão e ambos os grupo F permaneceram com ganho de massa reduzido. Quanto a composição corporal, a exposição determinou maior massa magra, maior densidade mineral óssea e redução da área óssea, independente da dieta, além de tenderam a menores depósitos de gordura abdominal. Após abstinência, os grupos ABS7S e ABS19S mantiveram maior massa magra, sem alteração da densidade mineral óssea, apesar de menores níveis de conteúdo mineral e área óssea total. O grupo ABS19S apresentou maiores depósitos adiposos. A dieta hiperlipídica, durante a exposição, promoveu aumento da glicemia e redução da funcionalidade das células beta, com melhores indicadores na abstinência, mas permanecendo o elevado índice de resistência a insulina. Não houve alteração em triglicérides e colesterol plasmáticos. Nos machos a exposição à fumaça reduziu o consumo alimentar e, esse padrão foi mantido após abstinência, sem diferença de ganho de massa corporal, entre os grupos C e F. A composição corporal e a integridade óssea apresentou padrão semelhante ao das fêmeas, durante a exposição e abstinência, no entanto, sem a redução da área óssea. Houve tendência a maior conteúdo de gordura abdominal, relacionado ao tipo de dieta. Os indicadores de resistência a insulina também responderam de forma semelhante às fêmeas, com influência maior quando da dieta hiperlipídica. A abstinência provocou a redução das concentrações de colesterol. Alterações na ingestão alimentar, na massa corporal, na composição corporal e no metabolismo glicídico, de machos e fêmeas, se apresentaram de diferentes maneiras, mostrando que os efeitos da fumaça por vezes se sobrepõem a influencia da dieta e nem todas são revertidas com a abstinência, permanecendo na vida adulta.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica; tabagismo; composição corporal; adolescência; camundongos.

ABSTRACT

ALBUQUERQUE, Karine Pereira. *Effect of high-fat diet on the body composition of young male and female mice exposed to cigarette smoke and the response to withdrawal*. 2017. 92 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

Changes in nutritional pattern, including increased lipid intake by the diet, mainly associated with vegetable oils, are directly related to disorders resulting from the development of overweight and obesity. Another detrimental factor to life quality, which affects young people considerably, is smoking. Therefore, the association of these two factors represents a health problem. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of a high-fat diet containing soybean oil on food intake and body composition of young, female and male mice, exposed to cigarette smoke during adolescence as well as response to abstinence in adult life. From weaning, at 21 days post natal, until the end of the experimental period, animals were fed with normal (7S) and high-fat (19S) diets. From 35 to 50 days post natal, half of the animals were exposed to cigarette smoke (F) and the other half remained in ambient air (C). At the end, part of the animals was euthanized and the other remained in abstinence for 30 days (ABS). Food intake, body mass and body composition were all evaluated in all stages. Blood and visceral and subcutaneous adipose tissues were collected for analysis. In females, during smoke exposure, food intake was similar to C19S group and body mass gain was lower in F19S animals. In abstinence, F19S group presented the highest food intake and both F groups remained with reduced weight gain. Regarding body composition, the exposure determined higher lean mass, bone mineral density and bone area reduction, independent of diet, in addition to the tendency to lower abdominal fat deposits. After abstinence, the ABS7S and ABS19S groups maintained greater lean mass without alteration of bone mineral density, despite of the lower levels of mineral content and total bone area. ABS19S group had higher adipose deposits. The high-fat diet, during exposure, promoted increased glycemia and reduced beta cell function, with better indicators of abstinence, but high insulin resistance index remained. There was no change in plasma triglycerides and cholesterol. In males, smoke exposure reduced food intake, and this pattern was maintained after abstinence, with no difference in body mass gain, between C and F groups. Body composition and bone integrity showed similar pattern to that of females during exposure and abstinence, however, without reduction of bone area. There was a trend towards greater abdominal fat content, related to the type of diet. Insulin resistance indicators also responded in a similar way to females, with greater influence on the high-fat diet. Abstinence led to a reduction in cholesterol concentrations. Changes in food intake, body mass, body composition and glucose metabolism of males and females have occurred in different ways, showing that the effects of smoke sometimes overlap the influence of high-fat diet and not all are reversed with abstinence, remaining in adult life.

Key words: high-fat diet; smoking; body composition; mice; adolescence.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 - Consumo doméstico de óleo de soja	19
Figura 1 - Componentes da combustão do cigarro	25
Figura 2 - Linha do tempo	35
Figura 3 - Sistema de exposição à fumaça de cigarro	38
Figura 4 - Ingestão alimentar em camundongos, fêmeas e machos, do desmame até antes da exposição à fumaça de cigarro	42
Figura 5 - Massa corporal de camundongos, fêmeas e machos, no desmame e antes da exposição à fumaça de cigarro	43
Figura 6 - Ingestão alimentar de camundongos fêmeas	46
Figura 7 - Evolução da massa corporal de camundongos fêmeas	48
Figura 8 - Concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol de camundongos fêmeas	53
Figura 9 - Ingestão alimentar de camundongos machos.....	55
Figura 10 - Evolução da massa corporal de camundongos machos	57
Figura 11 - Concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol de camundongos machos	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição nutricional das rações manufaturadas.....	36
Tabela 2 - Conteúdo e distribuição de gordura	44
Tabela 3 - Indicadores de integridade óssea.....	44
Tabela 4 - Análise de tecidos moles	49
Tabela 5 - Indicadores de integridade óssea.....	50
Tabela 6 - Massa dos tecidos adiposos.....	51
Tabela 7 - Indicadores de resistência à insulina	52
Tabela 8 - Análise de tecidos moles	58
Tabela 9 - Indicadores de integridade óssea.....	59
Tabela 10 - Massa dos tecidos adiposos.....	60
Tabela 11- Indicadores de resistência à insulina	61

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIOVE	Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AG	Ácidos graxos
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
AIN	Instituto Americano de Nutrição (<i>American Institute of Nutrition</i>)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AO	Área óssea
CDC	Centros de Controle e Prevenção de Doenças (<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>)
CEUA	Comitê de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais
CMO	Conteúdo mineral ósseo
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
DHA	Ácido docosahexaenóico
DMO	Densidade mineral óssea
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
DXA	Absorciometria de feixe duplo de raios-X
EPA	Ácido eicosapentaenoico
EPM	Erro padrão da média
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (<i>Food and Agriculture Organization</i>)

GLUT	Transportador de glicose
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA	Modelo de avaliação da homeostase (<i>Homeostatic Model Assessment</i>)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IL-6	Interleucina 6
KCAL	Quilocaloria
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
OMS/WHO	Organização Mundial da Saúde/ <i>World Health Organization</i>
OPAS	Organização Pan-americana de Saúde
PeNSE	Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinase
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
POMC	Pró-opiomelanocortina
SBH	Sociedade Brasileira de Hepatologia
SNC	Sistema nervoso central
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TSH	Hormônio estimulador da tireoide

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	13
1	REVISÃO DA LITERATURA	15
1.1	Mudanças no padrão alimentar	15
1.1.1	Alimentação na adolescência.....	16
1.1.2	Lipídios na alimentação: o uso do óleo de soja.....	17
1.1.3	Dietas hiperlipídicas.....	20
1.2	Tabagismo	22
1.2.1	Nicotina, um componente com múltiplas ações no organismo.....	24
1.2.2	Tabagismo e adolescência.....	28
2	JUSTIFICATIVA	31
3	OBJETIVOS	32
3.1	Objetivo geral	32
3.2	Objetivos específicos	32
4	MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1	Animais	33
4.2	Delineamento experimental	33
4.3	Produção de ração	36
4.4	Exposição à fumaça de cigarro	37
4.5	Absorciometria de Feixe Duplo de Raios-X (DXA)	38
4.6	Coleta de sangue e tecidos adiposos	39
4.7	Análises plasmáticas	39
4.8	Avaliação da Homeostasia: Índices de HOMA	40
4.9	Análise estatística	40
5	RESULTADOS	41
5.1	Dados da etapa basal dos camundongos fêmeas e machos, período do desmame até antes da exposição à fumaça de cigarro	41
5.1.1	Ingestão alimentar.....	41
5.1.2	Massa corporal.....	43
5.1.3	Composição corporal.....	44
5.2	Dados dos camundongos fêmeas, do período de exposição à fumaça de cigarro até o final do período de abstinência	45
5.2.1	Ingestão alimentar.....	45
5.2.2	Massa corporal.....	47
5.2.3	Avaliação da composição corporal por DXA.....	49
5.2.3.1	Tecidos moles.....	49

5.2.3.2	Ossos.....	50
5.2.4	Massa dos tecidos adiposos	51
5.2.5	Indicadores de resistência à insulina.....	52
5.2.6	Triglicerídeos e colesterol plasmáticos	53
5.3	Dados de camundongos machos, do período de exposição à fumaça de cigarro até o final do período de abstinência	54
5.3.1	Ingestão alimentar.....	54
5.3.2	Massa corporal.....	56
5.3.3	Avaliação da composição corporal por DXA	58
5.3.3.1	Tecidos moles	58
5.3.3.2	Ossos.....	59
5.3.4	Massa dos tecidos adiposos	60
5.3.5	Indicadores de resistência à insulina.....	61
5.3.6	Triglicerídeos e colesterol plasmáticos	62
6	DISCUSSÃO	63
	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS	75
	APÊNDICE A - Comparação entre fêmeas e machos no período do desmame à exposição à fumaça de cigarro	90
	APÊNDICE B - Comparação entre fêmeas e machos no período após exposição à fumaça de cigarro	91
	APÊNDICE C - Comparação entre fêmeas e machos no período após abstinência	92

INTRODUÇÃO

A previsão de uma expectativa de vida para além dos 70 anos de idade, no Brasil, foi atingida na virada do século, devido à melhoria nas condições gerais de vida. Dentre os vários fatores que contribuem estão o maior acesso a alimentos, os quais também favoreceram a diminuição da taxa de mortalidade infanto-juvenil. Atualmente, a expectativa é de 75,5 anos, com os benefícios mais expressivos para a população feminina (IBGE, 2015). No entanto, deve-se levar em conta que a longevidade deve ser acompanhada por qualidade de vida e, para tal, é necessário que os indivíduos cultivem hábitos saudáveis desde a infância.

De forma lastimável, dois grandes fatores deletérios à saúde vêm se expandindo entre a população jovem: o ganho excessivo de massa corporal, caracterizado por sobrepeso e obesidade e a adesão ao tabagismo. Ambos, são fatores que prejudicam a qualidade de vida, aumentam os custos em saúde pública e provocam o aumento das taxas de mortalidade precoce. Sobrepeso e obesidade representam um dos principais problemas de saúde pública do mundo e estão relacionados à maior oferta e consumo de alimentos de alta densidade energética (WHO, 2015). No Brasil, a incidência vem crescendo de forma acelerada, também na infância e na adolescência, estando relacionada ao maior consumo de produtos gordurosos, industrializados e refinados e, menor consumo de alimentos naturais como frutas e hortaliças. O desenvolvimento de sobrepeso e obesidade, pela mudança de hábitos alimentares, aumentam o risco de surgimento de comorbidades como a dislipidemia, a hipertensão arterial sistêmica e o diabetes mellitus tipo 2 - doenças crônicas não transmissíveis (IBGE, 2010).

O tabagismo, grave problema de saúde pública, é a principal causa de morte evitável, do Brasil e do mundo (WHO, 2015). Prejudica a qualidade de vida, levando a alterações na composição corporal, aumento da incidência de doenças respiratórias, doenças cardiovasculares, câncer e osteoporose. A adesão ao hábito de fumar em fase precoce da vida, como a adolescência, aumenta a dependência na fase adulta. Embora políticas para o controle do tabagismo na população em geral tenham sido intensificadas, um fator que colabora para a recaída durante abstinência é o receio do ganho de peso corporal, principalmente, entre as mulheres (INCA, 2015).

Considerando que, entre os jovens, a alimentação inadequada com produtos de alta densidade energética é uma realidade e que pouco se sabe sobre os efeitos do tabagismo nesses organismos, o presente estudo visa conhecer as consequências da interação entre uma dieta hiperlipídica e a exposição à fumaça de cigarro sobre a composição corporal de

camundongos fêmeas e machos adolescentes e, os desdobramentos da cessação do hábito de fumar, no organismo adulto jovem.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Mudanças no padrão alimentar

A nutrição adequada é um importante fator de promoção da saúde, bem como de sua manutenção (PERICHART-PERERA *et al*, 2010). A alimentação está associada não apenas às necessidades fisiológicas, mas também com aspectos culturais, sociais, científicos, sendo importante, inclusive, no desenvolvimento e evolução das sociedades (PROENÇA, 2010).

O padrão alimentar instalado na sociedade contemporânea está relacionado a diminuição do consumo de alimentos naturais (frutas, verduras, hortaliças), associado ao aumento do consumo de alimentos ultraprocessados. Estudos em diferentes países confirmam o aumento do consumo destes alimentos industrializados, destacando-se a maior intensidade em países como o Brasil, que possuem renda familiar média (MONTEIRO *et al*, 2013; MARTINS *et al*, 2013).

Ao longo dos últimos anos, a mudança na dieta humana tem sido alvo de investigações. Seu efeito negativo, em vários aspectos nutricionais, está caracterizado por um desequilíbrio dietético determinado pelo aumento da ingestão de alimentos ricos em sal e açúcares, e, no entanto, deficiente em outros nutrientes como vitaminas e minerais (WHO, 2002). Atualmente, soma-se ainda o fato do consumo inadequado de alimentos ricos em lipídios, altamente calóricos, estar aliado com o sedentarismo, contribuindo significativamente para o desenvolvimento de sobrepeso, obesidade e doenças associadas, devido ao comprometimento da capacidade de regulação do balanço energético (FLATT & TREMBLAY, 1998; WOODS *et al*, 2003; ROLLS, 2009).

A Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO) estimou que, em 2014, mais de 1,9 bilhões de adultos no mundo tinham sobrepeso, sendo 600 milhões de obesos. Além disso, 41 milhões de crianças já apresentam quadro de sobrepeso ou obesidade (WHO, 2016). De acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), estima-se que no Brasil, o crescimento da obesidade é significativo e que quase 60% da população estão na linha do sobrepeso e obesidade (IBGE, 2013). Estes dados foram confirmados, recentemente, pelo Panorama de Segurança Alimentar e Nutricional na América Latina e Caribe (FAO/OPAS, 2017), cujo relatório foi baseado em informações da OMS, mostrando que mais de 35% da população brasileira adulta está acima do peso e 20% são obesos. Entretanto, não são apenas os adultos

afetados por essa transformação nutricional e seus efeitos no aumento de peso corporal. A Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar – PeNSE - mostrou que mais de 30% de estudantes adolescentes, entre 13 a 17 anos, estão acima do peso (IBGE, 2016)

1.1.1 Alimentação na adolescência

Adolescentes são considerados susceptíveis ao sobrepeso e obesidade devido à exposição a fatores de risco como a falta de realização de atividades físicas, a omissão de refeições, aumento do consumo de alimentos altamente calóricos e horários irregulares de alimentação (DIETZ, 1998). O cenário que se apresenta para os jovens é de alto impacto, uma vez que pode comprometer a longevidade, devido ao aumento do risco para o excesso de peso e surgimento de doenças crônicas não transmissíveis, como diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia na vida adulta (BARANOWSKI *et al*, 2000; LEAL *et al*, 2010). Além disso, os adolescentes são especialmente considerados um grupo de risco nutricional. Pois, para alcançarem a demanda do crescimento, o aumento das necessidades energéticas e de nutrientes podem não ser supridos pela ingestão de dieta inadequada (ENES & SLATER, 2010).

Pesquisas que possuem como público-alvo os estudantes são grandes indicadores das mudanças no padrão alimentar de crianças e adolescentes. Diversos estudos relataram que, apesar das recomendações do Guia Alimentar para a População Brasileira para hábitos alimentares adequados, o que se observa é o crescimento da utilização de alimentos ultraprocessados e redução do consumo de alimentos *in natura*, em todos os níveis socioeconômicos e regiões do país (BRASIL, 2014a; MALTA *et al*, 2014; AZEREDO *et al*, 2015; LOUZADA *et al*, 2015). Enes & Slater (2015) mostraram que apenas 10% dos jovens abordados consomem o mínimo para uma alimentação considerada adequada. Entre os alimentos recomendados, são consumidos menos da metade de frutas, legumes, leite e derivados e menos de um terço de cereais e derivados.

De acordo com a PeNSE os percentuais de consumo de alimentos que são considerados marcadores de alimentação não saudável, foram em média 13,7% para salgados fritos (coxinha de galinha, quibe, pastel, acarajé e batata frita), 41,6% para guloseimas (doces, balas, chocolates, chicletes, bombons ou pirulitos), 26,7% para refrigerantes e 31,3% para ultraprocessados salgados (hambúrguer, presunto, mortadela, salame, linguiça, salsicha,

macarrão instantâneo, salgadinho de pacote, biscoitos salgados). Estes últimos apresentaram maiores percentuais nas regiões sul e sudeste que a média nacional (IBGE, 2015).

Além destas categorias de alimentos, a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), referente aos anos de 2008-2009, indicou que a participação de lipídios no total de calorias consumidas na alimentação já alcança proporções máximas na média nacional urbana. Mais uma vez, as regiões sul e sudeste apresentam maiores índices, tendo como referência as recomendações nutricionais. Isto se dá pelo aumento do consumo de gorduras na dieta, devido a maior participação de óleos e gorduras vegetais, incluindo a margarina e, principalmente, o óleo de soja (IBGE, 2010). Diante disso, faz-se necessário entender um pouco mais da participação da utilização de gorduras na alimentação, em especial desta fonte lipídica, que além da prevalência em jovens, está presente nas demais faixas etárias em toda a população brasileira.

1.1.2 Lipídios na alimentação: o uso do óleo de soja

Os lipídios são macromoléculas essenciais que desempenham uma grande variedade de funções celulares. Eles são a principal forma de armazenamento de energia na maioria dos organismos, bem como os principais constituintes das membranas celulares. Em geral, os lipídios são obtidos pela ingestão alimentar, pela mobilização dos estoques armazenados no tecido adiposo e, no fígado, pela conversão do excesso de carboidratos da alimentação, exportando-os para outros tecidos (NELSON & COX, 2002; SANTOS & AQUINO, 2008). Dessa forma, os lipídios constituem-se como importantes moléculas necessárias à vida e, a alimentação está diretamente relacionada à sua obtenção.

Na dieta ocidental, cerca de 95% dos lipídios consumidos são constituídos de triglicerídeos, moléculas cujo glicerol é esterificado por 3 ácidos graxos (BOSQUEIRO, 2009). Em relação à sua estrutura e ao tipo de ligação da cadeia de hidrocarboneto, os ácidos graxos podem ser classificados em saturados (AGS, uma única ligação entre carbonos) ou insaturados (mais de uma ligação entre carbonos) e o grau de saturação determina perfil diferenciado (SCHAFFER, 2002). Os ácidos graxos insaturados são subclassificados de acordo com a quantidade de duplas ligações existentes, podendo ser monoinsaturado (AGMI, apenas uma dupla ligação) e poliinsaturados (AGPI, mais de uma dupla ligação). Os AGS e os AGMI são chamados ácidos graxos não-essenciais, pois conseguem ser sintetizados pelo

organismo. Os AGPI são essenciais pelo fato do organismo humano não poder sintetizá-los devido à falta de enzimas responsáveis pela dessaturação, as quais estão presentes apenas em plantas e algas marinhas (MOREIRA *et al*, 2002). Sendo assim, existe a necessidade de obter os ácidos graxos essenciais pela fonte dietética.

Os ácidos graxos saturados (AGS) são representados principalmente pelo ácido esteárico e são encontrados principalmente em alimentos de origem animal como derivados do leite, banhas e carne (LARSSON & QUINN, 1994; TVRZICKA *et al*, 2011). Já os ácidos graxos insaturados, presentes em grande quantidade em gorduras vegetais, possuem um padrão para identificar a localização da dupla ligação, onde é utilizada a denominação ômega (ω), atualmente substituída pela letra n, que determina quatro famílias desta série: n-3, n-6, n-7 e n-9. Os principais representantes dos AGMI são os ácidos oléico e palmitoléico (n-9 e n-7, respectivamente). O ácido oléico tem como principal fonte dietética o azeite de oliva, sendo também encontrado nos óleos de canola, de soja e de milho (TVRZICKA *et al*, 2011).

As duas famílias de AGPI essenciais são representadas pelo ácido linoleico e o ácido linolênico. O ácido α -linolênico é precursor da família n-3, originando os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA). Já o ácido linoléico dá origem a outros ácidos da família n-6 como o ácido araquidônico (LARSSON & QUINN, 1994; BURDGE, 2011). A família n-3 é essencial para o crescimento e desenvolvimento normal do organismo, é um componente importante dos fosfolípidios de membrana plasmática, possuem propriedades anti-inflamatória, antitrombótica, antiarrítmica e vasodilatadora (SIMOPOULOS, 1999; TETRI *et al*, 2008). Já os ácidos graxos n-6 se destacam por serem precursores dos eicosanóides, substâncias de importância regulatória para o funcionamento celular (HOLMAN, 1979).

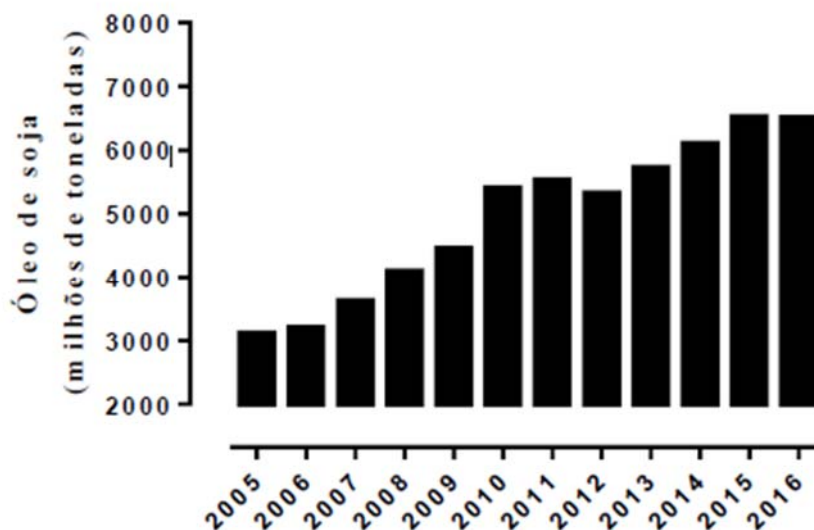
Os óleos vegetais são substâncias extraídas de grãos e sementes e são ricos em ácidos graxos, principalmente AGMI e AGPI, variando sua composição de acordo com a fonte vegetal. Os óleos vegetais são fontes, principalmente, de ácidos graxos n-6, como, por exemplo, os óleos de soja, linhaça, canola, girassol, de semente de uva, e em concentrações mais baixas, no óleo de milho e no óleo de semente de algodão (TVRZICKA *et al*, 2011).

O consumo de óleos vegetais, em especial de soja, tem aumentado no mundo todo, substituindo parte do consumo de gorduras animais. O Brasil e os Estados Unidos destacam-se por serem os maiores produtores e exportadores mundiais de soja. E, na América Latina, o Brasil também ocupa a posição de maior produtor e consumidor de óleos vegetais (FAO/OPAS, 2017). De toda a soja produzida, cerca de 20% é destinada ao processamento do óleo. De acordo com relatórios da Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais

(ABIOVE, 2017), a produção de óleo de soja em 2016 foi de 7,5 milhões de toneladas, com consumo doméstico de mais de 6,5 milhões e exportação do excedente.

O consumo doméstico de óleo de soja sofreu um aumento de cerca de 100% no país nos últimos 11 anos (Gráfico 1). Devido a grande oferta e menor custo, por conta de sua extensa produção, o óleo de soja se tornou o mais consumido em todas as classes sociais no país (LEVY-COSTA *et al*, 2005). Concomitante ao aumento do consumo de óleos vegetais ocorreu o declínio da ingestão de outros tipos de gorduras, como a banha e a manteiga. A ingestão de óleos vegetais é importante, pois ambos os AGPI que os compõem são essenciais e, portanto, devem estar na dieta diariamente, por não serem sintetizados pelo corpo (ZEVENBERGEN *et al*, 2009).

Gráfico 1 -Consumo doméstico de óleo de soja



Legenda: Demonstração do aumento do consumo de óleo de soja, em toneladas, entre os anos de 2005 a 2016.
Fonte: adaptado de ABIOVE, 2017.

De acordo com a composição de ácidos graxos, cada 100g de óleo de soja são formados por cerca de 15 gramas de AGS, 23 gramas de AGMI e 58 gramas de AGPI. Dentre esta elevada quantidade de AGPI, 50 gramas compreendem o ácido linoléico (n-6) e 7 gramas, ácido linolênico (n-3) (IBGE, 2011). A relação n-6/n-3 do óleo de soja é cerca de 7:1, considerada alta quando comparada ao óleo de canola, que tem relação n-6/n-3 de 2:1 e é considerada a mais próxima do ideal. É importante conhecer a composição dos AGPI da dieta, pois, é sabido que a baixa razão entre AG n-6/n-3 está relacionada à promoção de benefícios à saúde (MCDONALD, 2005). Alimentos que promovem o desequilíbrio entre esta relação

estão ligados a uma cascata de eventos moleculares, capazes de promover doenças crônicas inflamatórias, cardiovasculares, disfunções neurológicas e distúrbios do sistema imune. Monitorar esses índices de ingestão dietética pode, inclusive, prevenir doenças e salvar vidas (HEROLD & KINSELLA, 1986; LANDS, 2012).

1.1.3 Dietas hiperlipídicas

Os AG são de indispensável importância ao organismo. Porém, o consumo excessivo de óleos e gorduras é capaz de induzir diversos danos à saúde, dentre eles a elevação dos estoques de gordura, que pode resultar no desenvolvimento de obesidade, por conta do aumento do total calórico ingerido na dieta (WHO, 1998).

As dietas hiperlipídicas são caracterizadas por serem compostas por uma grande quantidade de lipídios, em sua totalidade. A origem lipídica pode ser animal ou vegetal, estando cada vez mais evidente que o efeito sobre a saúde humana depende, além da quantidade, da fonte dos ácidos graxos (MADSEN *et al*, 2005).

De acordo com a classificação do lipídio, pode-se notar a propensão para o desenvolvimento de doenças a partir de seu consumo exacerbado. Como exemplo, AGS são conhecidos por possuírem papel aterogênico, aumentando o risco de doenças cardiovasculares (WHO/FAO, 2002).

Em estudos experimentais, principalmente com roedores, dietas hiperlipídicas são utilizadas em substituição às dietas balanceadas para induzirem modelos de sobrepeso ou obesidade, reproduzindo assim, modelos nutricionais humano, com sobrecarga de gordura, durante um determinado período (CESARETTI & KOHLMANN JUNIOR, 2006; ESTADELLA *et al*, 2004; DUARTE *et al*, 2006; DINIZ *et al*, 2008). A partir destes modelos, o conhecimento gerado pode possibilitar o surgimento de novas terapias, bem como fornecer embasamento para sua prevenção, uma vez que por motivos éticos e procedimentais não é possível realizar alguns estudos em humanos (WHITE *et al*, 2013).

Diferentes tipos de dieta são ofertadas aos animais para gerarem condições semelhantes à obesidade humana e, em comum, todas tem o caráter altamente energético. A dieta de cafeteria, por exemplo, é considerada uma dieta palatável, caracterizada pelo acréscimo ou associação de componentes ricos em sódio, gordura saturada e com poucas fibras, como por exemplo, banha, leite condensado, refrigerantes, chocolate, amendoim,

guloseimas etc. Estudos apontam que esta dieta, administrada em ratos, promove um padrão alimentar hiperfágico e hipercalórico, um rápido ganho de peso corporal, aumento da massa de tecido adiposo, intolerância à glicose, resistência à insulina e hiperinsulinemia, distúrbios metabólicos semelhantes aos observados em humanos (CESARETTI & KOHLMANN JUNIOR, 2006; WOODS *et al*, 2003). Com o desencadear da obesidade, pode ocorrer a ausência de uma ação efetiva da insulina, que promova alterações no metabolismo lipídico e, por sua vez, desencadeiem mecanismos que induzirão doenças no fígado (CARVALHEIRA & SAAD, 2006). O aumento da glicemia é desencadeado, uma vez que sem a ação inibitória da insulina, os mecanismos da gliconeogênese e a glicogenólise ficam liberados. Mas, as alterações decorrentes da resistência à insulina não se limitam apenas ao metabolismo glicídico, estendo-se também ao metabolismo protéico e lipídico (CARPINELLI, 2009). Alterações na funcionalidade das vias citosólicas dos receptores insulínicos levam ao desenvolvimento do quadro de resistência à insulina, classicamente observado em condições como a obesidade e o diabetes mellitus. Estas alterações são caracterizadas por redução da concentração e da atividade cinase do receptor, da concentração e da fosforilação dos receptores de insulina, da atividade da PI3K, da translocação dos GLUTs e da atividade das enzimas intracelulares (ZAID *et al*, 2008). No tecido adiposo, promove a ativação da lipase hormônio sensível, estimulando a lipólise e elevando a concentração de ácidos graxos na circulação sanguínea, com subsequente acúmulo e toxicidade nos músculos, fígado e outros tecidos, incluindo as células β do pâncreas. Em condições fisiológicas, os ácidos graxos são esterificados e formam triglicerídeos, sofrem oxidação mitocondrial e/ou ainda vão para a síntese e liberação de VLDL. Entretanto, quando esses mecanismos não conseguem compensar a captação e a síntese de ácidos graxos, ocorre deposição de gordura no próprio tecido hepático, conhecida como esteatose hepática. Simultaneamente, há redução da captação de glicose no músculo estriado, contribuindo para a hiperglicemia. Em resposta à hiperglicemia e à elevação dos ácidos graxos circulantes, ocorre aumento da produção e secreção de insulina, na busca de suprir sua ação, então limitada. Em adição, o estado de hiperinsulinemia reduz a própria ação do hormônio ao provocar a diminuição de seus receptores (SBH, 2012). No fígado, a resistência à insulina provoca aumento da produção de VLDL, associada a hipertrigliceridemia e baixas concentrações de HDL (TASKINEN, 2005; RASHID *et al*, 2003).

A manipulação de dietas experimentais pode ser utilizada não apenas com fins obesogênicos, mas também, para reproduzir as alterações no padrão alimentar. As dietas de cafeteria são altamente calóricas, mas não necessariamente, reproduzem a realidade da

alimentação de uma população. A suplementação de óleos vegetais na alimentação de roedores permite refletir, além dos efeitos de ácidos graxos sobre o metabolismo, as consequências do incremento destes óleos na alimentação diária, fato já observado nas estatísticas da população brasileira. Como exemplo, o óleo de soja que é o mais utilizado no preparo de refeições e de frituras, é absorvido pelo alimento e se torna parte integrante, modificando suas propriedades nutricionais (CELLA *et al*, 2002).

O óleo de soja, além do seu amplo consumo pela população brasileira, é também a fonte lipídica recomendada para a elaboração de dieta padrão e balanceada para roedores (REEVES, 1997). Portanto, o acréscimo em seu conteúdo representa um aumento no percentual calórico oriundo de lipídios, bem como é observado em estudos populacionais. Águila *et al* (2002) mostraram que a suplementação com óleo de soja por 12 meses foi capaz de promover aumento de glicemia, de HDL-c, VLDL, triglicerídeos, e do peso corporal, em ratos Wistar. Estudos de Costa *et al* (2011; 2013; 2015) verificaram que uma dieta rica em óleo de soja, além de elevar os níveis de glicemia, insulinemia e a resistência a insulina, provocou a redução da ilhota pancreática e a hipertrofia de adipócitos, aumento das massas de gordura intra-abdominal e do fêmur, em ratos machos jovens de 60 dias, e em maior prazo, aos 180 dias de vida, provocou menores área óssea, densidade e conteúdo mineral ósseo.

1.2 Tabagismo

O tabaco, utilizado há centenas de anos, é uma erva do gênero *Nicotiana*, que possui mais de 70 espécies, sendo a principal espécie utilizada comercialmente, em suas diversas formas, a *Nicotiana tabacum*. O tabagismo é uma prática que está associada ao consumo de qualquer derivado do tabaco, produtor ou não de fumaça. A principal forma de utilização do tabaco é através do cigarro, mas pode também ser através de cachimbos, cigarrilha, tabaco mascado e narguillé (MEIRELES, 2009).

Pesquisas divulgadas em 2015 mostraram que, em 2013, 21% dos adultos do mundo eram fumantes. Este percentual corresponde a mais de 1,1 bilhão de pessoas, sendo 950 milhões de homens e 177 milhões de mulheres. Os números atuais indicam uma queda na prevalência em comparação aos dados definidos em 2007, quando o percentual total de fumantes era de 23%. A análise pormenorizada da distribuição desses números mostrou a maior prevalência em países com rendas per capita mais altas, seguida dos países de média e

baixa renda (WHO, 2015). Apesar de redução dos índices de fumantes em nível mundial, principalmente nos países desenvolvidos, o tabagismo continua sendo considerado uma epidemia global, decorrente do aumento do uso em países em desenvolvimento (GARRETT *et al*, 2001; WHO, 2001). Pesquisa posterior apontou como uma das principais causas desse crescimento, o expressivo aumento do uso do tabaco por mulheres e jovens (WHO, 2009).

No Brasil, em 2008, a prevalência de fumantes adultos era de cerca de 18% e, em 2013, foi de 13%, mostrando que houve uma queda no número de tabagistas nos últimos anos. Em termos gerais, isso representa uma exceção ao crescimento identificado em países pobres e em desenvolvimento (WHO, 2015). Sabe-se que a prevalência de fumantes no Brasil permanece entre indivíduos do sexo masculino, da região rural, com menor grau de instrução e de baixa renda (INCA, 2011; BRASIL, 2014b).

A redução dos índices de tabagismo no Brasil se deve, principalmente, a legislação vigente que proíbe vender, fornecer ou entregar a menores de 18 anos, produtos cujos componentes possam causar dependência física ou psíquica e, ainda restringe o uso e a propaganda de produtos fumíferos e obriga a advertência sobre os malefícios do fumo nas embalagens de cigarro (BRASIL, 1996). Além disso, a Lei nº 12.546 (BRASIL, 2011) alterou a lei de 1996, incluindo a proibição do fumo em ambientes coletivos fechados, públicos ou privados.

Devido aos efeitos psicoativos da nicotina - componente presente em todos os derivados do tabaco - a OMS inseriu o tabagismo na Classificação Internacional de Doenças, como pertencente ao grupo de transtornos mentais e comportamentais decorrentes do uso de substâncias psicoativas, e é considerado uma doença crônica e epidêmica (WHO, 1997). O tabagismo é a segunda causa de morte no mundo e a primeira causa de morte evitável, estando associado à cerca de 5 milhões de mortes por ano, devido aos distúrbios associados a sua utilização. Dentre eles, é responsável por 90% dos casos de câncer de pulmão em homens e 70% dos casos em mulheres e, também é fator de risco para doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e cânceres em diversos outros órgãos como bexiga, pâncreas, orofaringe, laringe, esôfago e cólon. O risco se dá, não apenas de seu uso direto, mas também por seu uso passivo, ou seja, pela exposição à fumaça ambiental, promovendo distúrbios que comprometem a saúde (WHO, 2002). Metade da população de fumantes tem estimativa de morte precoce, reduzindo em 15 anos a expectativa de vida em comparação com pessoas não fumantes, como consequência das condições associadas ao tabagismo (WHO, 2009). No Brasil, são registradas cerca de 200 mil mortes anuais, por câncer de pulmão, decorrentes do tabagismo (CAVALCANTE, 2005) e, a probabilidade de morte por doença coronariana é três

vezes maior que em não fumantes. Outro dado relacionado ao tabagismo, enquanto doença, é o elevado custo do tratamento das complicações associadas, já que é responsável por quase todos os casos de cânceres de pulmão no país e, por 30% de outros tipos de câncer (INCA, 1998).

Pode-se inferir que, o desenvolvimento mundial é significativamente influenciado pelo tabagismo, seja pelo seu alto índice de mortalidade, pelos custos dispensados no tratamento de doenças associadas e pela diminuição de produtividade. No entanto, a redução do hábito tabagista observada nos últimos anos se deve, em grande parte, por medidas que compreendem o aumento dos impostos sobre o cigarro, visando controlar o comércio; a limitação de propaganda e, a divulgação de seus malefícios. Todas estas medidas buscam minimizar seu consumo e tornar cada vez menor a prevalência de tabagistas em nível mundial (WHO, 2015).

1.2.1 Nicotina, um componente com múltiplas ações no organismo

A folha do tabaco, utilizada na produção de cigarro, possui diversos componentes químicos, entre eles hidrocarbonetos, fenóis, ácidos graxos, isoprenos, ésteres e minerais inorgânicos. A fumaça produzida pela queima do cigarro é um aerossol concentrado com bilhões de partículas por centímetro cúbico, sendo conhecidas mais de 4700 substâncias químicas, com mais 200 produtos tóxicos e, cerca de 50, com potencial cancerígeno (Figura 1). No aspecto físico, a fumaça é uma mistura heterogênea composta de uma fase particulada e outra gasosa. Na fase particulada está a nicotina e o alcatrão, que é uma mistura de todas as partículas mais os componentes condensáveis da fase gasosa. Entre estas partículas estão os hidrocarbonetos carcinogênicos, nitrosaminas, aldeídos, acetaldeídos, fenóis, metais pesados, entre outros. Já a fase gasosa é composta por monóxido de carbono, radicais livres, bases nitrogenadas, substâncias heterocíclicas, entre outras. Quanto aos componentes químicos, estes podem ser divididos em categorias como cancerígenos (arsênico, chumbo, cádmio, níquel, resíduos de agrotóxicos e substâncias radioativas encontradas no alcatrão), gases tóxicos (monóxido de carbono, que dificulta o transporte de oxigênio por conta de sua ligação com a hemoglobina) e irritantes (fenóis) e promotores de dependência (nicotina) (BATISTA, 1980; SILVA, 2004; MOREIRA & SILVA, 2009).

Figura 1 - Componentes da combustão do cigarro



Legenda: A figura mostra algumas das principais substâncias químicas presentes no cigarro.
Fonte: www.saúde.ig.br, adaptado do Tobacco Atlas.

Dentre os componentes químicos descritos se destaca a nicotina, um alcalóide de fórmula molecular $C_{10}H_{14}N_2$, responsável pelo padrão de dependência causado pelo tabaco (SILVA, 2004). Sabe-se que a nicotina é a principal substância psicoativa do cigarro. Está envolvida com o reforço positivo, a influência do controle da utilização, a busca pelo cigarro e, ainda, está associada aos efeitos da síndrome de abstinência ao uso do cigarro (RUSSEL, 1989).

Após ser inalada, a nicotina atravessa os alvéolos pulmonares e, via corrente sanguínea, alcança o sistema nervoso central (SNC) após 15 segundos, onde atravessa a barreira hematoencefálica, e chega ao cérebro. Ao passar pelo fígado é metabolizada pelas enzimas CYP2A6 e CYP2B6 do citocromo P450, formando uma variedade de metabólitos, dos quais, 70 a 80% são convertidos a cotinina. Esta é excretada na urina e conhecida como o indicador de nicotina, cuja meia-vida é de apenas duas horas (PENTON & LESTER, 2009; DOOLITTLE *et al*, 1995; HUKKANEN *et al*, 2005; YILDIZ, 2004).

No cérebro, a nicotina interage com receptores colinérgicos nicotínicos, promovendo a alteração conformacional dos receptores, facilitando o influxo de Na^+ e Ca^{+2} e conduzindo a despolarização. Esse mecanismo age no sistema de recompensa cerebral e está, diretamente, associado à dependência química. A nicotina possui efeitos aditivos, através da ativação de

neurônios mesolímbicos dopaminérgicos. Além disso, a nicotina inibe as monoaminoxidases, enzimas responsáveis por degradar as monoaminas, como a dopamina, aumentando assim seus efeitos (PLANETA & CRUZ, 2005; LI & BURMEISTER, 2009; BRUIJNZEEL, 2012; DANI & DE BIASE, 2001). Nos centros noradrenérgicos do tronco encefálico, a nicotina medeia as reações de estresse e vigilância e se relaciona as funções mentais e cognitivas. A ampla distribuição de receptores nicotínicos colinérgicos pelo sistema nervoso central favorece todas as interações já citadas (KAY & TASMAN, 2002).

Dentre os efeitos da nicotina está o aumento da síntese e liberação de hormônios e neurotransmissores, como acetilcolina, noradrenalina, serotonina, dopamina, e como vasopressina, corticotrofina, cortisol, B-endorfinas, entre outras, mostrando sua atuação no sistema neuroendócrino. A liberação de catecolaminas na corrente sanguínea promove, dentre outros efeitos, o aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial, a liberação de ácidos graxos e a mobilização de glicose para o sangue (BENOWITZ, 2010).

Muitos dos efeitos endócrinos da nicotina dependem do tempo de exposição. Há uma diminuição na liberação de prolactina em usuários de nicotina em longo prazo, mas não pelo uso agudo (FUXE *et al*, 1989). No eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, altos níveis de T3 e T4 e baixos de TSH sugerem que a exposição ao cigarro promove liberação dos hormônios tireoideanos, com resultante supressão de TSH (JORDE & SUNDSFJORD, 2006). No eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, a exposição aguda à nicotina parece atuar centralmente, elevando as concentrações séricas de CRH e ACTH, e, conseqüentemente, as de cortisol (SEYLER, 1984). No sistema reprodutor, o cigarro está associado à redução da fertilidade em ambos os sexos, causando disfunção erétil em homens e irregularidades menstruais e na ovulação em mulheres (BRAND *et al*, 2011). Na gestação, uma das conseqüências do uso do cigarro são baixos níveis de IGF-I e o comprometimento ao crescimento fetal (VILLALBÍ *et al*, 2007).

Exposição em longo prazo à nicotina aumenta os prejuízos sobre a estrutura óssea tanto em homens quanto em mulheres, em idades mais avançadas (LAW & HACKSHAW, 1997; KANIS *et al*, 2005; VESTERGAARD & MOSEKILDE, 2003). Em mulheres, após a menopausa, aumenta ainda mais o risco de fratura óssea (WILLIAMS *et al*, 1982).

Embora diversos sejam os fatores associados ao aumento do risco de fraturas ósseas em fumantes, como as quedas, os baixos índices de massa corporal, os efeitos tóxicos diretos no osso, redução na absorção de cálcio, elevados níveis de cortisol, maior perda óssea em idosos e menores níveis de estrogênio em mulheres (LAW & HACKSHAW, 1997), alguns

destes eventos podem estar relacionados a diminuição da densidade mineral óssea (DMO). Entretanto, esta diminuição apresenta uma baixa relação com o aumento do risco de fraturas em fumantes, estando mais relacionada com o aumento da idade (LAW & HACKSHAW, 1997; KANIS *et al*, 2005; CUMMINGS *et al*, 1995). Sendo assim, o tabagismo está associado ao maior risco de fraturas osteoporóticas do quadril, em homens e mulheres, e pode ter seus fatores dependentes ou não da DMO (KANIS *et al*, 2008; DIMAI *et al*, 2011). Além dos efeitos diretos no risco de fraturas, indivíduos tabagistas apresentam menor absorção de vitamina D e cálcio do que indivíduos não-fumantes (NEED *et al*, 2002) e, apresentam menor resposta efetiva ao tratamento com estradiol, sobre o aumento da massa óssea (BJARNASON *et al*, 2009).

Em animais, os relatos sobre efeitos diretos da nicotina sobre o tecido ósseo são controversos, podendo promover efeitos deletérios ou não ter efeito na integridade óssea (BROULIK & JARÁB, 1993; HOLLINGER *et al*, 1999; FUNG *et al*, 1998; IWANIEC *et al*, 2000). A exposição à fumaça de cigarro mostrou maior prejuízo ao osso que o tratamento exclusivo com a nicotina, sugerindo que outros componentes do cigarro, como metais pesados ou hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, possam ser responsáveis pelos efeitos negativos no esqueleto (CÉSAR-NETO *et al*, 2003). Outro estudo mostrou que a exposição à fumaça pode inibir a formação óssea e aumentar a reabsorção óssea. No entanto, os mecanismos pelos quais o cigarro exerceu seu efeito negativo sobre o osso não estão totalmente compreendidos (GAO *et al*, 2011).

Os efeitos do cigarro sobre a estrutura corporal é amplamente reconhecido. Em geral, fumantes apresentam menor peso corporal quando comparado a não-fumantes e a cessação do hábito de fumar leva ao ganho de peso (AUDRAIN-MCGOVERN & BENOWITZ, 2011). Os mecanismos envolvidos neste fenômeno são complexos e envolvem várias vias neuroquímicas, que atuam sobre a fome e a saciedade. Estudos em roedores mostraram que a nicotina suprime o apetite ativando o receptor colinérgico presente nos neurônios pró-opiomelanocortina (POMC), sinalizando saciedade (MINEUR *et al*, 2011). A exposição à nicotina também aumenta o gasto de energia, o qual é revertido na sua ausência (AUDRAIN-MCGOVERN & BENOWITZ, 2011; HUR *et al*, 2010). Em razão da reversão destes efeitos, como o aumento do apetite e o ganho de peso corporal, muitos fumantes, principalmente mulheres, desistem dos programas de cessação do tabagismo (KLESGES *et al*, 1988). Um fenômeno preocupante é o uso do cigarro como estratégia intencional para perder peso (POTTER *et al*, 2004).

Apesar da manutenção e/ou perda de peso, a exposição ao cigarro piora a resistência à

insulina, aumentando a predisposição para o diabetes mellitus tipo 2 e o consequente surgimento de síndrome metabólica (CHIOLERO *et al*, 2008). Paradoxalmente, a cessação do tabagismo também pode levar à mudanças que favorecem o desenvolvimento da resistência à insulina, as quais dependem das variações resultantes no ganho de peso corporal (INOUE *et al*, 2011). O tabagismo também está associado à pior distribuição de adiposidade visceral, independentemente, das alterações no índice de massa corporal. Isto ajuda a explicar o paradoxo do aumento do risco metabólico associado à adiposidade visceral, sem ganho de peso corporal, em indivíduos fumantes (BERLIN, 2008). A incidência de síndrome metabólica, no entanto, pode não aumentar se a perda de peso estiver associada a uma perda líquida de adiposidade central (ONAT *et al*, 2007). Outros mecanismos potenciais para explicar a resistência à insulina induzida pela nicotina são o aumento da expressão de fator de necrose tumoral α (TNF- α), comprometendo, a translocação de transportador de glicose tipo 4 (GLUT4) e a diminuição dos níveis de adiponectina (TATEBE & MORITA, 2011; KAWAMOTO *et al*, 2010).

Outro efeito deletério associado ao tabagismo é a dislipidemia, que acompanha a resistência à insulina. Estudos em diferentes populações já demonstraram que, nos fumantes ela se apresenta em concentração elevada de colesterol, triglicerídeos, lipoproteína de baixa densidade (LDL) e redução de lipoproteína de alta densidade (HDL), que podem estar associados ao desenvolvimento de aterosclerose e doenças coronarianas (KHURANA *et al*, 2000; SINHA *et al*, 1995; YADAV *et al*, 2005).

1.2.2 Tabagismo e adolescência

Em todo o mundo, pesquisas mostraram que é muito precoce a experimentação do cigarro, sugerindo que 90% dos tabagistas iniciaram a prática antes dos 18 anos (CDC, 2012). Na maioria das grandes capitais, o primeiro contato com o cigarro ocorre, principalmente, no início da puberdade, estando associado à procura pela identidade. Esta inferência se dá porque os resquícios de marketing em torno do hábito tabagista estão relacionados ao amadurecimento e a vida adulta. Além disso, muitos jovens iniciam o hábito de fumar influenciados por comportamentos de indivíduos de seu convívio social, como amigos ou a própria família. Também por isso, facilmente tem acesso a cigarros, apesar das restrições etárias e limitações impostas à comercialização (DOUBENI *et al*, 2008).

No Brasil, de acordo com a PeNSE de 2012, mais de 30,0% dos jovens entre 13 e 15 anos tentaram fumar antes dos 12 anos. O vício da nicotina é estabelecido rapidamente e, os novos usuários de tabaco são altamente suscetíveis a manter o tabagismo durante sua vida adulta. O consumo precoce de tabaco é um preditor independente do aparecimento do vício da nicotina, aumentando a probabilidade de manutenção do tabagismo na vida adulta e, mostrando que a adolescência é um período essencial para os efeitos de recompensa da nicotina na vida adulta (BARRETO *et al*, 2014; CDC, 1994; CONSTANCEWIENER *et al*, 2016; ADRIANI *et al*, 2006; KOTA *et al*, 2009). Em modelos experimentais utilizando ratos foi verificado que a exposição à nicotina é mais efetiva na promoção de seus efeitos, quando acontece no início da adolescência (ADRIANI *et al*, 2002).

Apesar de todas as políticas e medidas adotadas para o controle do uso do tabaco e a consequente redução do número de fumantes no país, ainda há o desafio da necessidade de reduzir a iniciação precoce ao tabagismo. Em 2014, 74.589 adolescentes entre 12 e 17 anos foram avaliados e, 18,5% já havia experimentado cigarro pelo menos uma vez. Dentre esses, a maior prevalência de experimentação foi na faixa de 15 a 17 anos, em ambos o sexos. Em números reais, 1,88 milhões de adolescentes já experimentaram o cigarro, 579 mil fumam atualmente e cerca de 250 mil fumam com regularidade (FIGUEIREDO *et al*, 2016).

Além dos fatores acima mencionados, que contribuem para a iniciação ao tabagismo, a busca pela diminuição do massa corporal também tem sido relatada, entre meninas. Estudos realizados com algumas populações indicaram que o tabagismo foi iniciado para o aproveitamento dos efeitos anorexígenos da nicotina, uma vez que a adolescência é, muitas vezes, caracterizada por uma fase onde os jovens se consideram acima do peso. Assim, a motivação para iniciar o tabagismo está associada à diminuição da ingestão alimentar e da massa corporal (RYAN *et al*, 1998; TOMEO *et al*, 1999; FRENCH *et al*, 1994; FULKERSON & FRENCH, 2003; PERKINS, 1992; CHEN *et al*, 2012). É essencial saber como os efeitos ocorrem efetivamente na adolescência e se a manutenção da resposta inibitória, tão conhecida, permanece em longo prazo, na vida adulta. Isto por que, em longo prazo, a nicotina aumenta a gordura abdominal, esteatose hepática, intolerância à glicose e resistência à insulina (CHEN *et al*, 2012, CANOY *et al*, 2005; LIU *et al*, 2011), sendo portanto extremamente deletéria ao metabolismo e a qualidade de vida.

Cabe ressaltar que, não apenas o uso do cigarro industrializado está em evidência entre os jovens, deve-se também ter atenção ao cigarro eletrônico, o *e-cigarette*. Este dispositivo, criado em 2003, é alimentado através de bateria, sem queima de tabaco e com a vaporização de solução de nicotina e outros aditivos em aerossóis, em menores proporções que o cigarro

convencional. Apesar das controvérsias em torno de sua utilização e dos efeitos sobre a saúde, os cigarros eletrônicos surgiram como alternativas para o auxílio do controle da cessação do tabagismo. O aumento de sua popularização acelerou a procura por não-tabagistas, principalmente adolescentes. Ressalta-se o aumento exponencial da utilização por jovens nos Estados Unidos (WANG *et al*, 2016; CDC, 2013; KNORST *et al*, 2014). Estudos mostraram que os cigarros eletrônicos podem ser uma porta de entrada para o tabagismo para adolescentes e jovens ou ainda uma forma de continuação do uso de nicotina em jovens que já utilizam o cigarro industrializado (HARREL *et al*, 2014; WANG *et al*, 2016). No Brasil, a importação e comercialização deste tipo de cigarro foram proibidas pela Agência de Vigilância Sanitária, ANVISA, desde 2009. Entretanto, sua utilização pode ser observada no país, a partir de vendas ilegais, com propagandas veiculadas pela internet, em especial nas redes sociais.

Apesar da iniciação do tabagismo ocorrer, principalmente, durante a adolescência e a utilização de cigarro estar cada vez mais prevalentes em indivíduos desta faixa etária, poucos são os estudos que investigam o efeito do tabagismo em organismos jovens. A maioria dos estudos pré-clínicos e experimentais tem como objetivo conhecer os efeitos do uso do tabaco envolvendo indivíduos adultos.

2 JUSTIFICATIVA

Um reflexo do maior consumo de dietas hiperlipídicas é a mudança de peso corporal, com maior armazenamento de gordura e tendência a sobrepeso e obesidade. Esse novo perfil que vem se espalhando e crescendo, já atinge grande percentual de crianças e adolescentes, bem como o outro fator de desagravo à saúde, o tabagismo. Assim, a alimentação inadequada associada o tabagismo são fatores de comprometimento à composição corporal, que levam a distúrbios que afetam a qualidade de vida e a longevidade. Além disso, ambos são responsáveis por grande percentual de morbidade e mortalidade na população adulta. Os efeitos de cada um desses fatores vêm sendo estudados isoladamente e, principalmente, em organismos adultos. No entanto, poucos estudos têm documentado as conseqüências da associação da exposição ao fumo e consumo de alimentos com alto teor de gordura, durante a adolescência e as repercussões da abstinência na vida adulta.

Considerando o aumento do consumo de óleo de soja bem como o aumento do tabagismo, entre os adolescentes, em especial do sexo feminino, conhecer os efeitos dessa interação, sobre a composição corporal de organismos jovens, é relevante para se entender a gênese de alterações metabólicas e funcionais e as conseqüências que podem ser desencadeadas na vida adulta. Além disso, a possibilidade de avaliar o reflexo da cessação de tabagismo, com a manutenção da alimentação hiperlipídica no adulto jovem pode definir o perfil metabólico que vai se apresentar na vida adulta, após período de abstinência.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de dieta hiperlipídica sobre a ingestão alimentar e composição corporal de camundongos jovens, machos e fêmeas, expostos à fumaça de cigarro e a resposta à abstinência na vida adulta.

3.2 Objetivos específicos

Analisar, em camundongos fêmeas e machos, antes do período de exposição à fumaça de cigarro (35 dias de vida):

- A ingestão alimentar;
- A massa corporal;
- A composição corporal;
- Indicadores de integridade óssea.

Analisar, em camundongos fêmeas e machos, após os períodos de exposição à fumaça de cigarro e abstinência:

- A ingestão alimentar;
- A massa corporal;
- A composição corporal;
- A massa dos tecidos adiposos visceral e subcutâneo;
- Indicadores de integridade óssea;
- Indicadores do metabolismo glicídico
- Indicadores do perfil lipídico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Este estudo foi realizado de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais (CEUA) do Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (IBRAG/UERJ), com protocolo nº CEUA/030/2010.

No biotério do Laboratório de Fisiologia da Nutrição e Desenvolvimento do Departamento de Ciências Fisiológicas (IBRAG/UERJ), camundongos suíços fêmeas, aos três meses de vida, foram acasaladas na proporção de 3:1 (3 fêmeas para 1 macho). As fêmeas grávidas foram alocadas em gaiolas individuais e permaneceram com seus filhotes até o desmame. Durante todo o período, as fêmeas tiveram livre acesso à água e a ração comercial (Nuvilab®). Aos 21 dias de lactação, os filhotes foram desmamados, e os grupos experimentais foram formados, cada grupo recebendo apenas um representante, fêmea ou macho, de cada ninhada.

Os camundongos suíços, machos e fêmeas utilizados no estudo, foram acompanhados do desmame até o fim dos períodos experimentais, ou seja, após a exposição à fumaça de cigarro por 15 dias (50 dias pós-natal) e após abstinência de 30 dias à fumaça de cigarro (80 dias pós-natal). Os animais foram alocados em gaiolas de polipropileno, medindo 30 x 20 x 13 cm, separados por sexos, sendo no máximo 6 animais por gaiola. Os animais foram mantidos sob umidade e temperatura controlada ($23\pm 1^{\circ}\text{C}$) e ciclo artificial de claro-escuro de 12 horas (com luz de 7:00h às 19:00h). Os animais tiveram livre acesso à água e às rações manufaturadas.

4.2 Delineamento experimental

Aos 21 dias pós-natal, ao desmame, os camundongos machos e fêmeas foram inicialmente divididos em 2 grupos:

➤ 7S = filhotes alimentados com dieta manufaturada normolipídica, contendo 7g de óleo de soja (n= 24 camundongos fêmeas; n=24 camundongos machos);

➤ 19S = filhotes alimentados com dieta manufaturada hiperlipídica, contendo 19g de óleo de soja (n=24 camundongos fêmeas; n=24 camundongos machos).

Dos 21 aos 34 dias de vida foram avaliados a ingestão alimentar e a massa corporal dos animais. Aos 34 dias de vida, os camundongos foram submetidos à análise da composição corporal, por absorciometria de feixe duplo de raios-X (DXA).

Aos 35 dias de vida, os animais foram subdivididos em novos grupos para o início da exposição à fumaça de cigarro, por um período de 15 dias:

➤ C7S = animais alimentados com dieta normolipídica e não expostos à fumaça de cigarro (n=12 camundongos fêmeas; n=12 camundongos machos);

➤ F7S = animais alimentados com dieta normolipídica e expostos à fumaça de cigarro (n=12 camundongos fêmeas; n=12 camundongos machos);

➤ C19S = animais alimentados com dieta hiperlipídica e não expostos à fumaça de cigarro (n=12 camundongos fêmeas; n=12 camundongos machos);

➤ F19S = animais alimentados com dieta hiperlipídica e expostos à fumaça de cigarro (n=12 camundongos fêmeas; n=12 camundongos machos).

Ao final do período de exposição à fumaça, metade dos animais passou por análise de composição corporal e, em seguida, foi eutanasiada para posteriores análises, estando os animais com 50 dias pós-natal. A outra metade dos animais permaneceu 30 dias em abstinência à fumaça de cigarro, sendo então analisada e eutanasiada aos 80 dias pós-natal:

➤ C7S = animais alimentados com dieta normolipídica e não expostos à fumaça de cigarro (n=6 camundongos fêmeas; n=6 camundongos machos);

➤ ABS7S (antigo F7S) = animais alimentados com dieta normolipídica e abstinentes à fumaça de cigarro (n=6 camundongos fêmeas; n=6 camundongos machos);

➤ C19S = animais alimentados com dieta hiperlipídica e não expostos à fumaça de cigarro (n=6 camundongos fêmeas; n=6 camundongos machos);

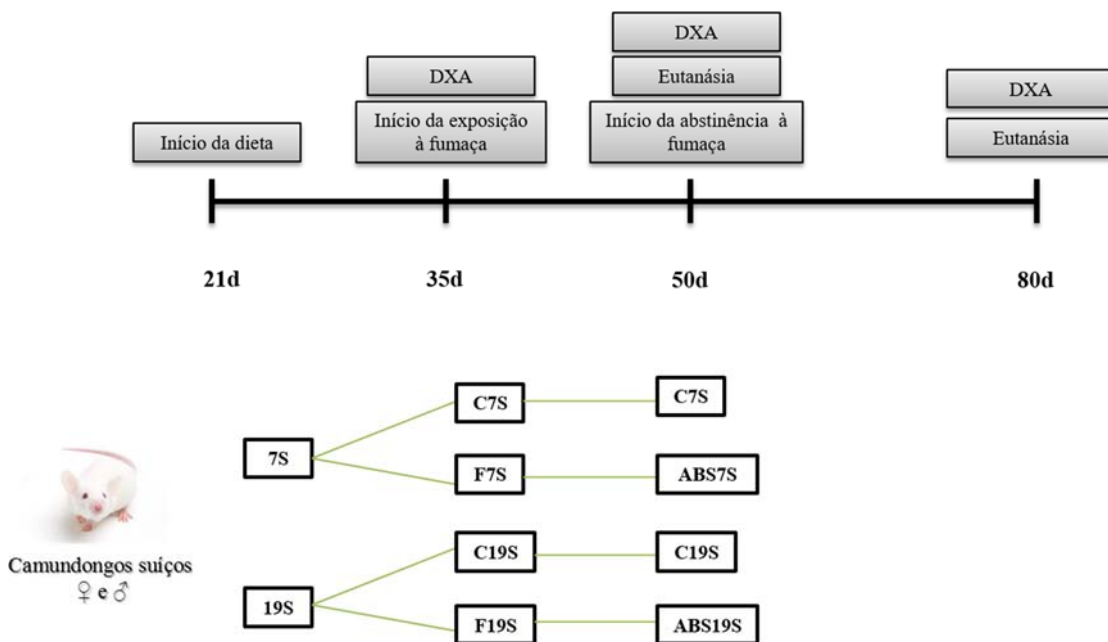
➤ ABS19S (antigo F19S) = animais alimentados com dieta hiperlipídica e abstinentes à fumaça de cigarro (n=6 camundongos fêmeas; n=6 camundongos machos).

A evolução da massa corporal foi analisada semanalmente durante todo o período experimental. A ingestão alimentar foi verificada a cada 4 dias, utilizando balança digital (MF

Filizola) e, representa a média diária de ração consumida por animal, calculada a partir do resto-ingestão de cada gaiola, onde as sobras de ração eram pesadas e seu valor subtraído da quantidade ofertada inicialmente. Em seguida, o valor encontrado era dividido pelo número de animais na gaiola e, depois, pelo número de dias. A fim de mostrar a evolução destes indicadores ao longo dos 80 dias de experimento, os grupos F7S e ABS7S, e F19S e ABS19S serão representados pela mesma linha nos gráficos de ingestão alimentar e evolução da massa corporal.

Ao final do período de exposição à fumaça de cigarro e após o período de abstinência, os animais foram submetidos à análise da composição corporal por DXA e, em seguida, foram eutanasiados através de exsanguinação por punção cardíaca. Foram coletados os tecidos adiposos retroperitoneal, mesentérico e subcutâneo, e o sangue para posteriores análises. A Figura 2 resume o delineamento experimental.

Figura 2 - Linha do tempo



Legenda: Camundongos suíços fêmeas e machos ao desmame, 21 dias de vida: 7S (animais alimentados com dieta normolipídica) e 19S (animais alimentados com dieta hiperlipídica). Aos 35 dias, início da exposição a fumaça de cigarro: C7S (animais alimentados com dieta normolipídica e não-expostos), F7S (animais alimentados com dieta normolipídica e expostos a fumaça), C19S (animais alimentados com dieta hiperlipídica e não-expostos) e F19S (animais alimentados com dieta hiperlipídica e expostos a fumaça). Aos 50 dias, início do período de abstinência: C7S (animais alimentados com dieta normolipídica e não-expostos), ABS7S (animais alimentados com dieta normolipídica e abstinente à fumaça), C19S (animais alimentados com dieta hiperlipídica e não-expostos) e ABS19S (animais alimentados com dieta hiperlipídica e abstinente a fumaça).

Fonte: A autora, 2017.

4.3 Produção de ração

As rações foram preparadas de acordo com a recomendação do Instituto Americano de Nutrição (AIN), para a alimentação de roedores (REEVES, 1997). A dieta controle foi preparada com 7g de lipídio de origem vegetal/ 100 g de ração, sendo utilizado, conforme a indicação, o óleo de soja. Para o preparo da ração hiperlipídica, a quantidade de óleo de soja foi de 19 g de óleo/100 g de ração (COSTA *et al*, 2009). A composição das dietas pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1: Composição nutricional das rações manufaturadas

Conteúdo da ração (g/100g)	Dieta 7S	Dieta 19S
Caseína ¹	20	20
Amido de Milho ²	54,34	42,02
Sacarose ³	10	10
Óleo de Soja ⁴	7	19
Fibra (celulose) ²	5	5
Mix Mineral ⁵ *	3,5	3,5
Mix Vitamínico ⁵ *	1	1
L-Cistina ²	0,3	0,3
Bitartarato de Colina ⁵	0,25	0,25
Percentual energético	Kcal%	Kcal%
Carboidrato	65	45
Proteína	17	14
Lipídio	17	39
Kcal/g	4,7	5,8
Ácidos graxos (%)	Em 7g de óleo	Em 19g de óleo
Saturados	14,20%	14,20%
Monoinsaturados	28,50%	28,50%
Poliinsaturados	57,10%	57,10%

Legenda: Composição nutricional das dietas experimentais. *As misturas de vitaminas e minerais seguiram as recomendações da AIN 93G para alimentação de roedores. Descrição dos ingredientes: 1= Agroquímica®; 2= Farnos®; 3= União®; 4= Liza®; 5= Prag soluções®.

Fonte: A autora, 2017.

Para preparar a ração, os ingredientes foram pesados em balança digital (MF- Filizola) e misturados em batedeira industrial (Hobart) por cerca de 10 minutos em velocidade leve. Em seguida, foi acrescentado o óleo que, após estar bem incorporado à mistura, permitiu a adição de água filtrada aquecida. Ao alcançar aspecto homogêneo, a massa foi separada em *pellets* e colocada em estufa ventilada a 50°C por 24 horas. Em seguida, as rações foram armazenadas em sacos plásticos e estocadas à temperatura de 4°C. O processo de produção ocorreu quinzenalmente para evitar o estoque excessivo e a oxidação lipídica. As rações foram produzidas no Laboratório de Fisiologia Endócrina do Departamento de Ciências Fisiológicas/IBRAG/UERJ.

4.4 Exposição à fumaça de cigarro

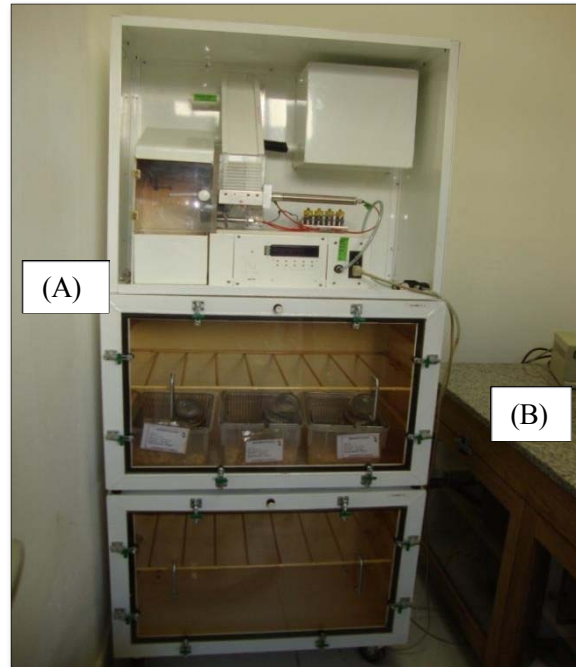
A exposição à fumaça de cigarro foi realizada em uma câmara acoplada a uma máquina automática de queima de cigarros e geração de fumaça (Teague Enterprises, Davis, CA, EUA), que é subdividida em parte superior, onde ocorre a queima de cigarro, e parte inferior, onde ficam alocados os animais que receberão a fumaça de cigarro produzida pela porção superior (Figura 3-A). A fumaça produzida pela queima de cigarro é dividida em fumaça principal (*mainstream*) - formada a partir da bomba de sucção do cigarro e, fumaça secundária (*sidestream*) - formada pela dissipação da fumaça do cigarro. Ambas passam por uma câmara de mistura e são conduzidas para a parte da câmara onde estão os animais, determinando que a fumaça que alcança os animais contenha cerca de 89% de fumaça secundária e 11% de fumaça primária.

Os animais foram expostos por um período de 8 horas diárias (das 8:00h às 16:00h) durante 15 dias, com exceção do último dia de exposição, no qual o tempo de exposição foi de apenas 4 horas (ABREU-VILLAÇA *et al*, 2010). A fumaça foi gerada a partir da queima de cigarros do tipo 3R4F, específicos para pesquisa, contendo 0,73 mg de nicotina e 9,4 mg de alcatrão por cigarro, produzidos na *Kentucky University, Louisville, KY, USA*, que considera este como um cigarro de concentração média de nicotina. Ao longo de cada 8h de exposição foram utilizados 52 cigarros, já que o ciclo de consumo do cigarro pela câmara é de cerca de 9 minutos por cigarro.

Os animais controles foram alocados em ambiente semelhante onde existe um sistema exaustão, que permite o recebimento apenas de ar corrente e livre da fumaça de cigarro

(Figura 3-B).

Figura 3 - Sistema de exposição à fumaça de cigarro



Legenda: A) Máquina geradora de fumaça na porção superior, e porção inferior com câmara para acomodação das caixas de camundongos. B) Câmara de ar corrente, sem fumaça, para o grupo controle.
Fonte: A autora, 2017.

4.5 Absorciometria de Feixe Duplo de Raios-X (DXA)

Antes da exposição à fumaça de cigarro e ao final dos períodos experimentais de exposição e de abstinência à fumaça de cigarro, os camundongos foram anestesiados com injeção intraperitoneal de Avertin® (Tribromoethanol; 0,02 mL/kg de peso corporal) e submetidos à avaliação da composição corporal, no Instituto de Nutrição da UERJ, pela técnica de Absorciometria de Feixe Duplo de Raios-X (Lunar DXA 200368 GE Instrument, Wisconsin, USA). Para a realização da análise, os camundongos foram posicionados em decúbito ventral na esteira do aparelho, possibilitando a determinação da quantidade (g) de massa gorda, massa magra, gordura do tronco; dos percentuais de gordura corporal total e gordura do tronco de cada animal, de indicadores da integridade óssea como o conteúdo mineral ósseo (CMO, gramas), a área óssea (AO, cm²) e a densidade mineral óssea (DMO, g/cm²). A análise das imagens foi realizada com auxílio de software específico (Encore

2008. Version 12.20 GE Healthcare), de acordo com protocolos descritos previamente (LUKASKI *et al*, 2001; GLICKMAN *et al*, 2004; TSUJIO *et al*, 2009).

4.6 Coleta de sangue e tecidos adiposos

Após jejum de 8 horas, os camundongos foram anestesiados com a mesma dose de Avertin anteriormente citada, e submetidos a exsanguinação através de punção cardíaca com seringas heparinizadas. O sangue coletado foi centrifugado (centrífuga *Hitachi High Speed Refrigerated Centrifuge CR22G II, USA*) a 3000rpm, por 15 minutos e o plasma obtido foi armazenado a -20 °C para análises análises.

Foram coletados e pesados, em balança de precisão, os tecidos adiposos retroperitoneal e mesentérico, que compõem o tecido adiposo visceral e, o tecido adiposo subcutâneo. As massas desses compartimentos adiposos estão expressas em grama.

4.7 Análises plasmáticas

As dosagens de glicose, triglicerídeos e colesterol foram realizadas através do método colorimétrico utilizandokits comerciais (Bioclin[®], Belo Horizonte, MG, Brasil). Para obter maior confiabilidade dos resultados, as análises foram realizadas em duplicatas e a leitura foi efetuada em espectrofotômetro (TU-1800, UV-VIS[®], Columbia, MD, USA). Os resultados em mg/dL foram convertidos para mmol/L.

As concentrações plasmáticas de insulina foram determinadas por radioimunoensaio, através de kit comercial (MP Biomedicals, Inc., CA, USA). As análises foram realizadas em duplicata e a quantificação foi efetuada em contador gama (Gamma-C12, USA). A concentração de insulina foi expressa em $\mu\text{UI/mL}$, sendo o coeficiente de variação intraensaio de 12,2% e o limite de sensibilidade de 4,6 $\mu\text{UI/mL}$.

4.8 Avaliação da Homeostasia: Índices de HOMA

Para determinar a resistência à insulina e a capacidade funcional da célula β pancreática, foram utilizados os Modelos de Avaliação da Homeostasia (Homeostasis Model Assessment), HOMA-IR e HOMA- β , respectivamente. Foram utilizados, para ambos, os valores de glicemia e insulinemia de jejum (MATTHEWS *et al*, 1985). Apesar de ser um modelo utilizado em humanos, os índices de HOMA vem sendo utilizado também em animais (COSTA *et al*, 2013).

O HOMA-IR é calculado a partir da multiplicação da concentração de insulina de jejum ($\mu\text{UI/mL}$) pela glicemia de jejum (mmol/L) dividido por 22,5; onde valores maiores que 1 representarão um nível crescente de insulino-resistência.

O HOMA- β é calculado a partir da concentração de insulina de jejum ($\mu\text{UI/mL}$) multiplicada por 20, dividida pela glicemia de jejum (mmol/L) subtraído de 3,5. Os valores encontrados podem caracterizar hiposecreção ou hipersecreção de insulina.

4.9 Análise estatística

Os resultados de ingestão alimentar e massa corporal foram obtidos através do método de análise de variância (ANOVA) bivariada, seguida do pós-teste de Bonferroni. Para os resultados de composição corporal, indicadores de integridade óssea, indicadores glicídicos e indicadores lipídicos foi utilizado o método de ANOVA univariada, seguida do pós-teste de comparação múltipla Newman-Keuls. Os resultados de composição corporal e integridade óssea do período inicial, pré-exposição à fumaça de cigarro, foram analisados pelo teste t de Student. As análises foram realizadas por sexo, separadamente.

O software utilizado foi o GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, www.graphpad.com, EUA), sendo os resultados expressos como média \pm erro padrão da média (EPM), considerando o nível de significância de $p < 0.05$.

5 RESULTADOS

Os resultados serão apresentados, inicialmente, pela etapa definida como “basal”, para os camundongos fêmeas e machos, período após o desmame que passaram para a alimentação com dieta manufaturada normo ou hiperlipídica, até os 35 dias de vida. Em seguida, os resultados serão apresentados, separadamente, de acordo com o sexo do animal, que mantêm a alimentação com dieta hiperlipídica até o final do estudo. Primeiramente, os dados das fêmeas pós-exposição (50 dias pós-natal), seguidos dos dados pós-abstinência (80 dias pós-natal) e posteriormente prosseguidos pela abordagem dos resultados dos camundongos machos, nos referidos períodos de avaliação definidos.

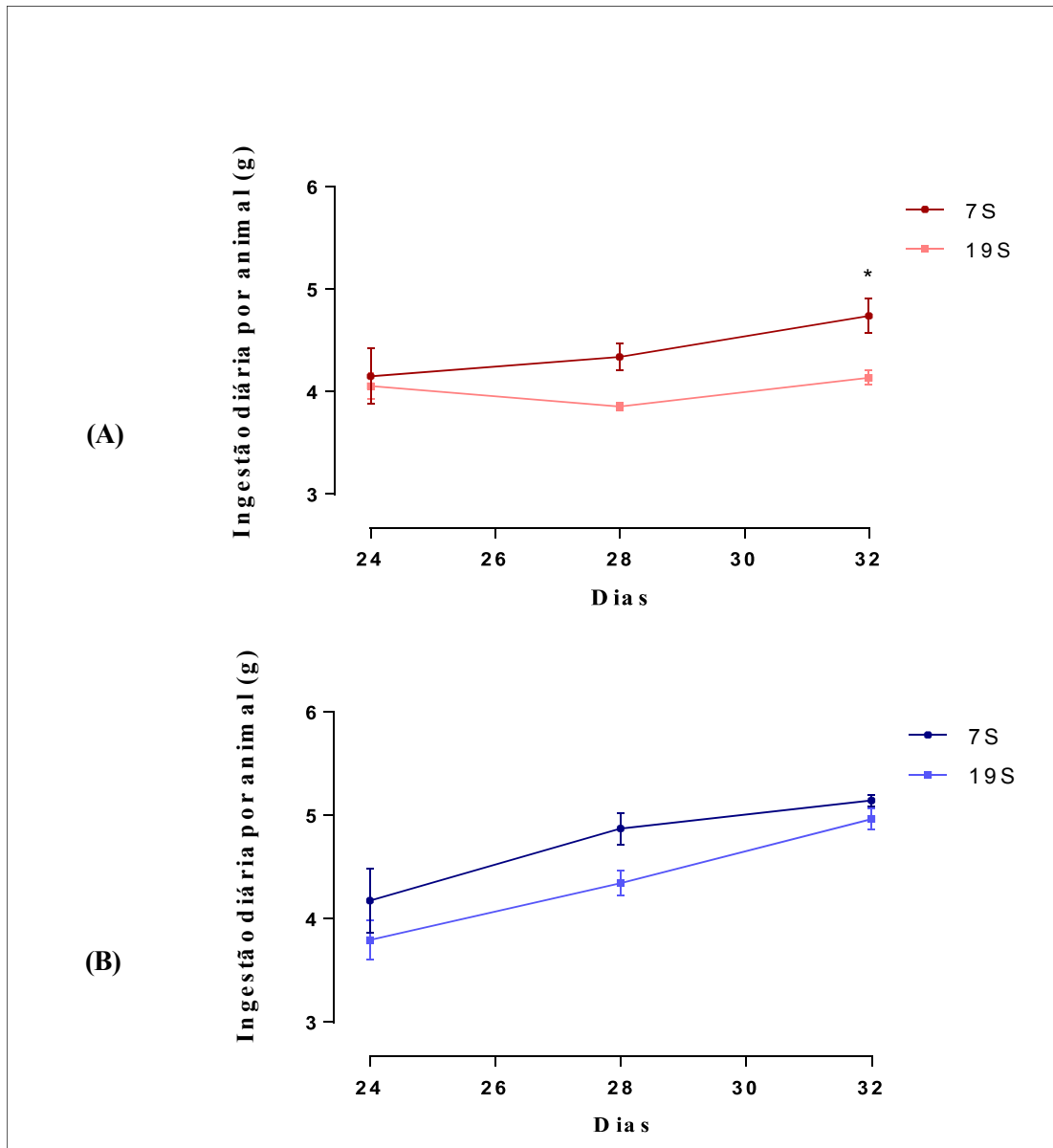
5.1 Dados da etapa basal dos camundongos fêmeas e machos, período do desmame até antes da exposição à fumaça de cigarro

5.1.1 Ingestão alimentar

Nas fêmeas, o consumo individual de ração a partir do desmame, tendeu a ser menor no grupo 19S. A diferença em relação ao grupo 7S só foi significativa aos 32 dias (7S: $4,74g \pm 0,42g$ vs 19S: $4,14g \pm 0,15g$). Esses resultados são observados na Figura 4-A.

Nos machos, o consumo alimentar individual não apresentou diferença significativa entre os grupos 7S e 19S no referido período. No dia 32, a média de consumo do grupo 7S foi de $5,14g \pm 0,15g$, enquanto no grupo 19S foi de $4,92g \pm 0,27g$. Estes resultados podem ser observados na Figura 4-B.

Figura 4 - Ingestão alimentar em camundongos, fêmeas e machos, do desmame até antes da exposição à fumaça de cigarro



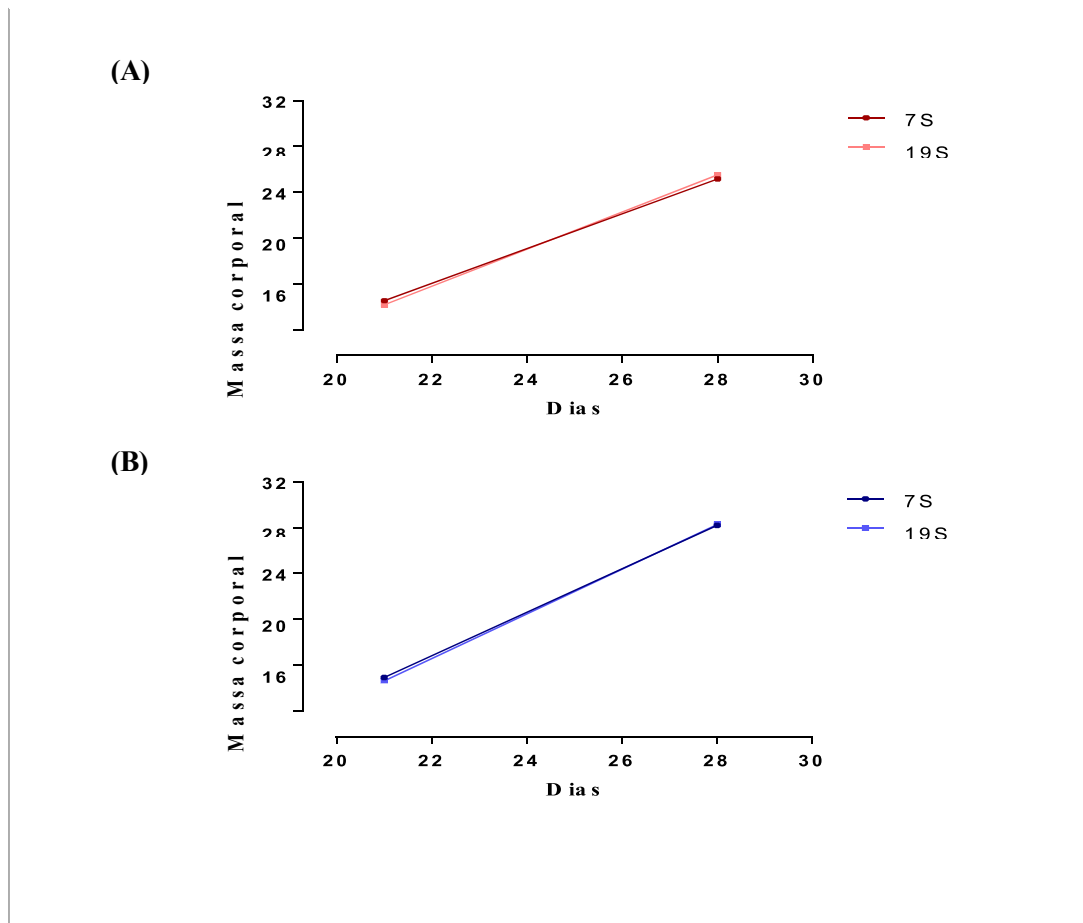
Legenda: Evolução da ingestão alimentar em camundongos fêmeas (A) e machos (B), do desmame até antes da exposição à fumaça de cigarro. 7S (n= 24, grupos alimentados com dieta normolipídica) e 19S (n=24, grupos alimentados com dieta hiperlipídica). Valores são expressos em média±epm. ANOVA bivariada, seguida de pós- teste Bonferroni. *p<0,05.

Fonte: A autora, 2017

5.1.2 Massa corporal

Não houve diferença significativa entre os grupos 7S e 19S, em fêmeas e machos, quanto à evolução de ganho de massa corporal do desmame até antes da exposição à fumaça de cigarro. Previamente à exposição, no 28º dia, a alimentação com dieta normo e hiperlipídica mostrou semelhança entre os grupos de fêmeas (7S: 25,18g \pm 0,39g; 19S: 25,52g \pm 0,56g) e também, entre os machos (7S: 28,19g \pm 0,87g; 19S: 28,27g \pm 0,71g), como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5 - Massa corporal de camundongos, fêmeas e machos, no desmame e antes da exposição à fumaça de cigarro



Legenda: Massa corporal em camundongos fêmeas (A) e machos (B), no desmame e antes da exposição à fumaça de cigarro. 7S (n= 24, grupos alimentado com dieta normolipídica) e 19S (n=24, grupo alimentado com dieta hiperlipídica). Valores são expressos em média \pm epm. ANOVA bivariada, seguida de pós-teste Bonferroni.

Fonte: A autora, 2017.

5.1.3 Composição corporal

Os indicadores de composição corporal, relacionados à gordura (Tabela 2) e à integridade óssea (Tabela 3), analisados por DXA não mostraram diferença significativa entre os grupos 7S e 19S, nem camundongos fêmeas nem nos machos.

Tabela 2 - Conteúdo e distribuição de gordura

	Massa gorda (g)	Massa magra (g)	Gordura do tronco (g)	% Gordura do tronco	% Gordura corporal
Fêmeas 7S	19,6 ± 0,61	7,43 ± 0,30	18,00 ± 0,53	73,27 ± 1,30	73,36 ± 1,29
Fêmeas 19S	20,4 ± 0,81	6,00 ± 0,70	19,00 ± 0,83	77,76 ± 1,86	77,78 ± 1,87
Machos 7S	25,29 ± 1,17	11,14 ± 0,77	22,86 ± 0,99	69,46 ± 2,06	69,56 ± 2,01
Machos 19S	25,29 ± 0,99	12,57 ± 0,92	22,86 ± 0,94	68,38 ± 1,72	66,94 ± 2,12

Legenda: Análise da gordura corporal por DXA em camundongos fêmeas e machos, antes da exposição à fumaça de cigarros. 7S (n=24, grupo alimentado com dieta normolipídica), 19S (n=24, grupo alimentado com dieta hiperlipídica). Valores são apresentados em média±epm. Teste *t* de Student.

Fonte: A autora, 2017.

Tabela 3- Indicadores de integridade óssea

	CMO total (g)	AO total(cm²)	DMO total (g/cm²)
Fêmeas 7S	0,943 ± ,020	14,29 ± 0,474	0,067 ± 0,002
Fêmeas 19S	1,043 ± 0,065	14,57 ± 0,611	0,070 ± 0,002
Machos 7S	1,143 ± 0,048	17,29 ± 0,644	0,066 ± 0,002
Machos 19S	1,071 ± 0,047	16,71 ± 0,421	0,065 ± 0,002

Legenda: Conteúdo mineral ósseo (CMO), Área óssea (AO) e Densidade mineral óssea (DMO) por DXA em camundongos fêmeas e machos, antes da exposição à fumaça de cigarros. 7S (n=24, grupo alimentado com dieta normolipídica), 19S (n=24, grupo alimentado com dieta hiperlipídica). Valores são apresentados em média±epm. Teste *t* de Student.

Fonte: A autora, 2017.

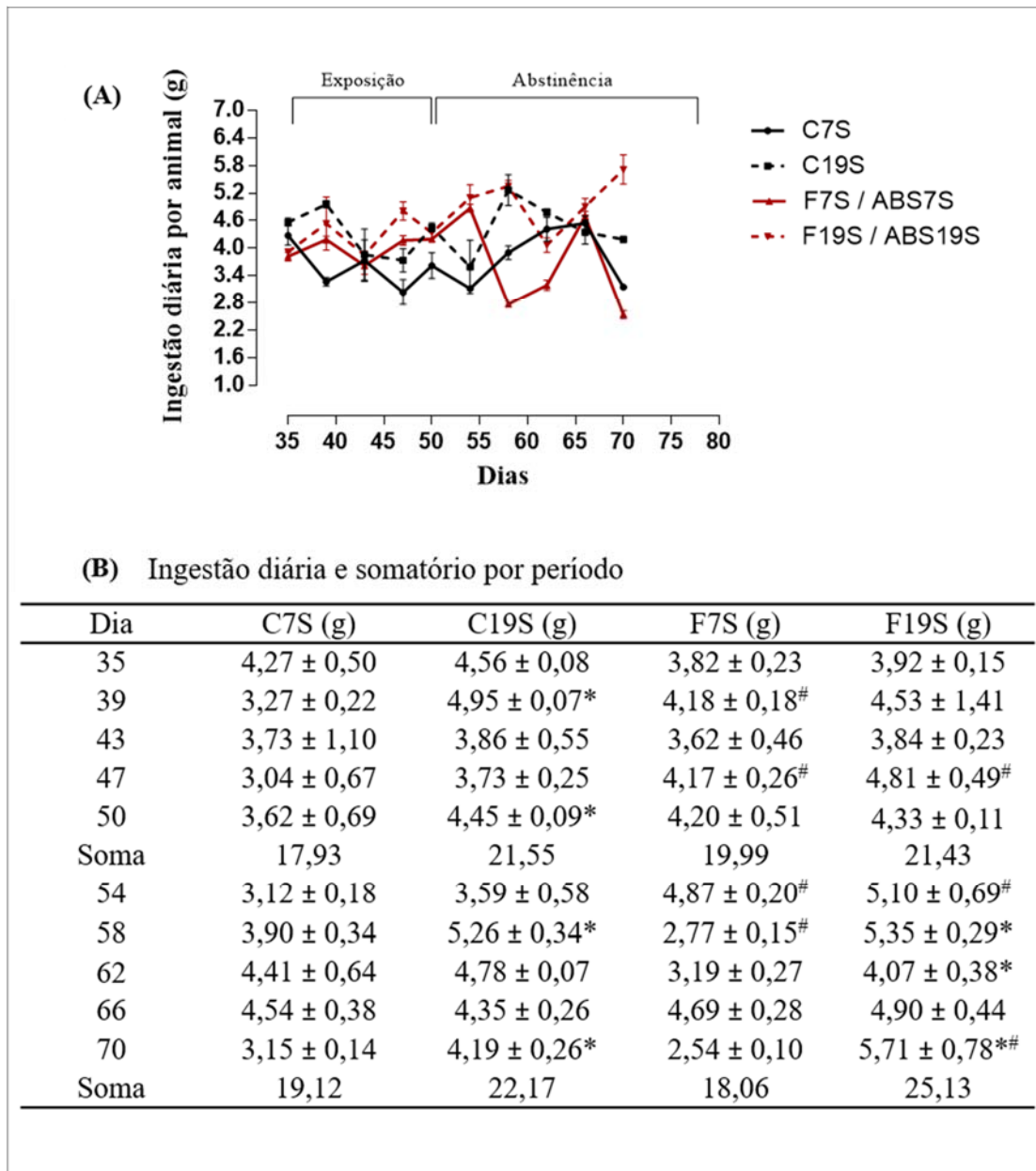
5.2 **Dados dos camundongos fêmeas, do período de exposição à fumaça de cigarro até o final do período de abstinência**

5.2.1 Ingestão alimentar

Durante o período de exposição, entre 35- 50 dias pós-natal, os grupos expostos à fumaça, F7S e F19S, apresentaram ingestão semelhante. Nos grupos não expostos à fumaça, os animais alimentados com dieta hiperlipídica, C19S, ingeriram mais ração que os alimentados com dieta normolipídica, C7S, nos dias 39 e 50. Quando os grupos são comparados pelo mesmo tipo de dieta, em alguns momentos ocorre maior ingestão pelos grupos expostos à fumaça. Nos dias 39 e 47, F7S consumiu mais do que C7S e, também no dia 47, F19S ingeriu mais em comparação ao C19S.

No período de abstinência, o grupo ABS19S apresentou maior consumo que ABS7S nos dias 58, 62 e 70. Entre os animais não expostos, o grupo C19S teve maior consumo alimentar que C7S, no dia 70. Comparando os grupos pela mesma ração ingerida, os animais em abstinência, ABS7S e ABS19S, apresentam momentos de maior consumo que os respectivos controles, C7S e C19S. Esses dados podem ser observados na Figura 6.

Figura 6 - Ingestão alimentar de camundongos fêmeas



Legenda: (A) Gráfico da evolução da ingestão alimentar e (B) Ingestão alimentar diária e o somatório, em camundongos fêmeas, durante os períodos de exposição à fumaça de cigarro e abstinência. C7S (n= 12, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=12, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=12, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=12, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA bivariada, seguida de pós-teste Bonferroni. * e [#] p<0,05. * C7S vs C19S, F7S vs F19S. [#] C7S vs F7S, C19S vs F19S.

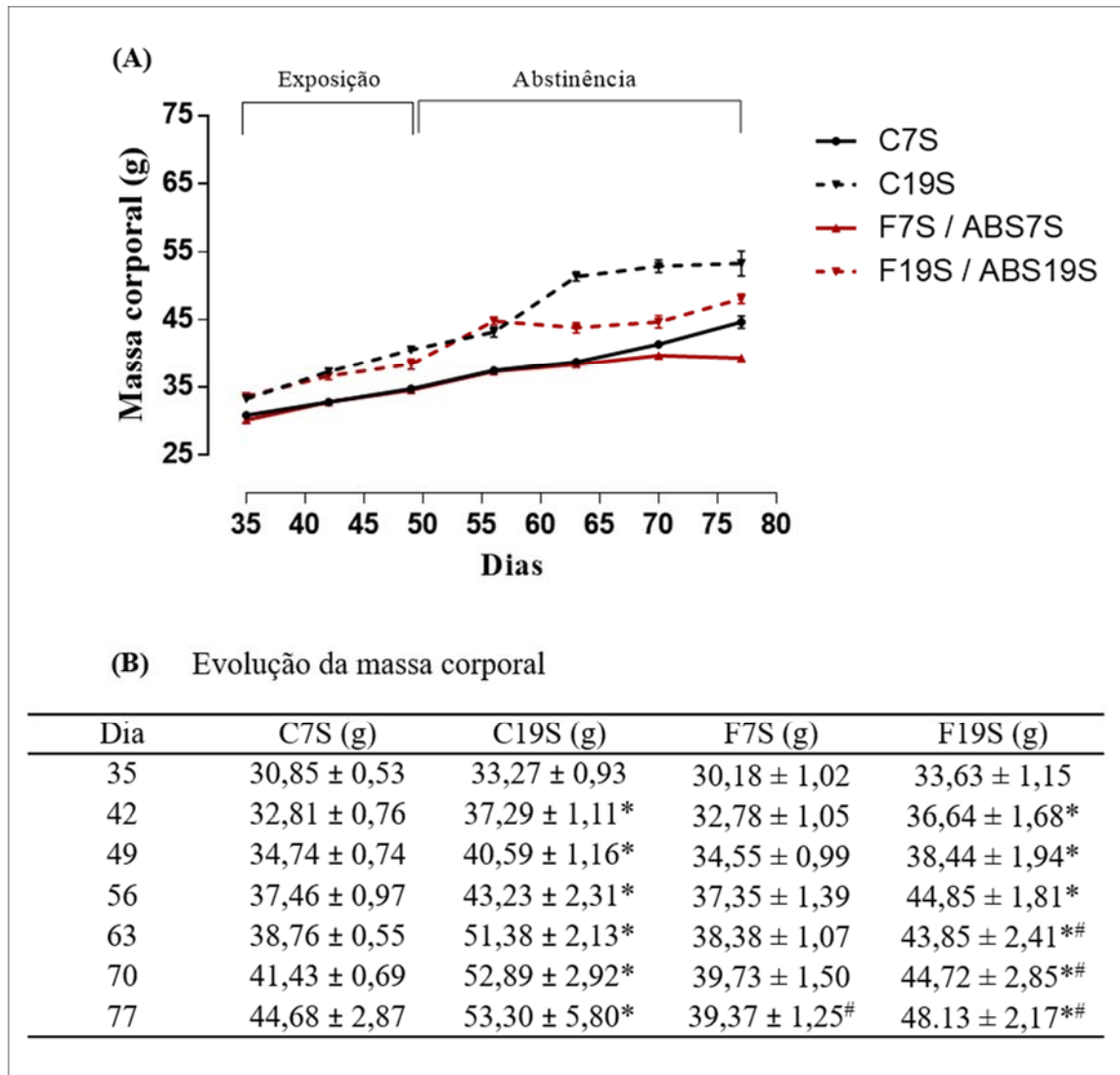
Fonte: A autora, 2017.

5.2.2 Massa corporal

Durante os períodos de exposição à fumaça e abstinência, os grupos alimentados com dieta hiperlipídica, C19S e F19S, apresentaram maior massa corporal quando comparados aos seus respectivos controles, C7S e F7S. Comparando o percentual de ganho de massa corporal, o do grupo C19S foi superior ao do grupo F19S (22% vs 14%). Padrão semelhante foi observado ao final do período de abstinência, dia 77, entre os grupos C7S e F7S, quando os animais não expostos pesavam mais que os fumantes.

No período de abstinência, a avaliação percentual indicou maior ganho de massa corporal nos animais controles, não expostos à fumaça, que nos ex-fumantes (C7S= 28% e C19S= 31%; ABS7S = 13% e ABS19S= 25%). A evolução da massa corporal pode ser observada na Figura 5-A, detalhada na Figura 5-B.

Figura 7 - Evolução da massa corporal de camundongos fêmeas



Legenda: (A) Gráfico da evolução da massa corporal e (B) evolução da massa corporal, em camundongos fêmeas, durante os períodos de exposição à fumaça de cigarro e abstinência. C7S (n= 12, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=12, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=12, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=12, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA bivariada, seguida de pós-teste Bonferroni. * e # p<0,05. * C7S vs C19S; F7S vs F19S. # C7S vs F7S; C19S vs F19S.

Fonte: A autora, 2017.

5.2.3 Avaliação da composição corporal por DXA

5.2.3.1 Tecidos moles

Os conteúdos de gordura não mostraram diferença significativa entre os grupos. Para a massa magra, animais do grupo F19S apresentaram maior conteúdo em comparação aos grupos C19S e F7S.

Na abstinência, o grupo ABS19S apresentou maiores valores para massa gorda e percentuais de gordura corporal total e de tronco do que o grupo ABS7S. Os percentuais de gordura foram expressivamente maiores nos grupos controles, C7S e C19S. O grupo ABS7S apresentou os menores valores de adiposidade e o maior valor de massa magra.

Tabela 4 - Análise de tecidos moles

Após Exposição	C 7S	C 19S	F 7S	F 19S
Massa gorda (g)	15,33 ± 1,20	17,00 ± 2,47	19,60 ± 2,04	22,60 ± 1,91
Massa magra (g)	11,67 ± 2,33	10,33 ± 0,88	15,33 ± 0,99	19,33 ± 1,48* [#]
Gordura do tronco (g)	13,00 ± 1,00	14,67 ± 1,76	12,00 ± 2,94	7,60 ± 0,60
% Gordura do tronco	57,3 ± 2,85	61,9 ± 3,60	46,3 ± 5,32	47,0 ± 3,94
% Gordura corporal total	57,4 ± 2,80	62,03 ± 3,58	49,02 ± 5,04	54,92 ± 3,28
Após Abstinência	C 7S	C 19S	ABS 7S	ABS 19S
Massa gorda (g)	31,00 ± 0,58	39,67 ± 4,91	15,00 ± 2,22 [#]	31,75 ± 3,70*
Massa magra (g)	7,33 ± 0,33	11,33 ± 2,33	20,00 ± 1,00 [#]	18,83 ± 1,40 [#]
Gordura do tronco (g)	17,00 ± 1,53	14,33 ± 2,33	7,17 ± 1,96 [#]	8,75 ± 0,25
% Gordura do tronco	80,50 ± 0,91	72,43 ± 2,47	37,32 ± 4,11 [#]	55,78 ± 2,06* [#]
% Gordura corporal total	80,90 ± 0,86	77,73 ± 1,68	42,45 ± 4,04 [#]	64,58 ± 2,17* [#]

Legenda: C7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro), ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinentes à fumaça de cigarro), ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinentes à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós-teste Newman-Keuls.* e [#] p<0,05. * C7S vs C19S, F7S vs F19S, ABS7S vs ABS19S. [#] C7S vs F7S ou ABS7S, C19S vs F19S ou ABS19S.

Fonte: A autora, 2017.

5.2.3.2 Ossos

Após o período de exposição à fumaça de cigarro, o grupo F19S apresentou a menor AO total e a maior DMO, comparado aos demais grupos estudados. O CMO não diferiu entre os grupos. E, não houve diferença entre os grupos C7S e C19S para os indicadores analisados.

Após a abstinência, os grupos ABS7S e ABS19S apresentaram valores significativamente menores para CMO e AO do que seus respectivos controles. Não houve diferença na DMO entre os grupos (Tabela 5).

Tabela 5 - Indicadores de integridade óssea

Após Exposição	C 7S	C 19S	F 7S	F 19S
CMO total (g)	0,767 ± 0,033	0,767 ± 0,067	0,933 ± 0,061	0,850 ± 0,034
AO total (cm²)	13,33 ± 0,333	12,67 ± 0,333	11,67 ± 0,558	10,00 ± 0,516* [#]
DMO total (g/cm²)	0,059 ± 0,002	0,062 ± 0,003	0,079 ± 0,003 [#]	0,084 ± 0,002 [#]
Após Abstinência	C 7S	C 19S	ABS 7S	ABS 19S
CMO total (g)	1,367 ± 0,033	1,200 ± 0,0	0,867 ± 0,056 [#]	0,883 ± 0,070 [#]
AO total (cm²)	16,33 ± 0,667	13,33 ± 0,333*	10,50 ± 0,718 [#]	10,50 ± 0,671 [#]
DMO total (g/cm²)	0,086 ± 0,001	0,089 ± 0,002	0,086 ± 0,002	0,084 ± 0,002

Legenda: C7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro), ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinente à fumaça de cigarro), ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinente à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós-teste Newman-Keuls.* e [#] p<0,05. * C7S vs C19S, F7S vs F19S, ABS7S vs ABS19S. [#] C7S vs F7S ou ABS7S, C19S vs F19S ou ABS19S.

Fonte: A autora, 2017.

5.2.4 Massa dos tecidos adiposos

O grupo C19S, aos 50 dias pós-natal, apresentou o maior acúmulo de massa visceral, apresentando diferença significativa quando comparada aos grupos C7S e F19S. Não houve diferença entre os grupos F7S e F19S, no entanto, o grupo F19S foi o que mostrou menor massa de tecido adiposo visceral dentre os grupos. O tecido subcutâneo do grupo F19S foi maior que o do F7S e não diferiu entre os controles, C7S e C19S. O grupo F7S apresentou o menor acúmulo de tecido adiposo subcutâneo.

Após período de abstinência, as massas de tecido adiposo visceral e subcutâneo foram maiores nos animais alimentados com dieta hiperlipídica, C19S e ABS19S, em relação a seus controles C7S e ABS7S, que não diferiram. No grupo ABS19S o tecido adiposo visceral foi expressivamente maior. Estes resultados podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 - Massa dos tecidos adiposos

Após Exposição	C 7S	C 19S	F 7S	F 19S
Visceral (g)	2,83 ± 0,12	4,63 ± 0,82*	2,10 ± 0,20	1,90 ± 0,47 [#]
Subcutâneo (g)	1,81 ± 0,08	2,23 ± 0,32	0,81 ± 0,09 [#]	2,07 ± 0,15*
Após Abstinência	C 7S	C 19S	ABS 7S	ABS 19S
Visceral (g)	2,48 ± 0,21	5,68 ± 0,05*	2,59 ± 0,53	9,77 ± 0,88* [#]
Subcutâneo (g)	1,47 ± 0,17	3,71 ± 0,13*	1,26 ± 0,43	4,47 ± 0,34*

Legenda: C7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro); ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinente à fumaça de cigarro), ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinente à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós-teste Newman-Keuls. * e [#] p<0,05. * C7S vs C19S, F7S vs F19S, ABS7S vs ABS19S. [#] C7S vs F7S ou ABS7S, C19S vs F19S ou ABS19S.

Fonte: A autora, 2017.

5.2.5 Indicadores de resistência à insulina

A glicemia de jejum apresentou maiores valores nos grupos F19S e ABS19S, em relação a seus respectivos controles, F7S e ABS7S. O grupo ABS19S evidenciou glicemia significativamente menor que o grupo F19S. A concentração plasmática de insulina não diferiu entre os grupos F7S e F19S durante a exposição, nem entre ABS7S e ABS19S após abstinência. No entanto, após abstinência foi significativamente maior do que durante o período de exposição.

O HOMA-IR apresentou o mesmo padrão que a glicemia de jejum, maiores valores nos grupos F19S e ABS19S, em relação a seus respectivos controles, F7S e ABS7S. Após abstinência, o grupo ABS19S, apresentou índice de resistência à insulina significativamente menor, que ao final do período de exposição à fumaça de cigarro.

O HOMA- β , evidenciou menor atividade de células β pancreáticas para o grupo F19S, em relação ao F7S e ABS19S. Após abstinência, o HOMA- β não diferiu entre os grupos. Estes resultados são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Indicadores de resistência à insulina

Indicadores glicêmicos	F7S	F19S	ABS7S	ABS19S
Glicemia (mmol/L)	6,70 \pm 0,19	8,79 \pm 0,28*	5,07 \pm 0,71 [#]	7,16 \pm 0,26* [#]
Insulina (μUI/mL)	27,0 \pm 1,64	25,65 \pm 1,22	31,33 \pm 1,27 [#]	32,73 \pm 0,84 [#]
HOMA-IR	8,08 \pm 0,62	10,75 \pm 0,46*	6,20 \pm 0,67	10,42 \pm 0,46*
HOMA- β	177,0 \pm 6,43	108,4 \pm 10,61*	152,9 \pm 13,39	173,3 \pm 11,35 [#]

Legenda: F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e expostos à fumaça de cigarro); F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e expostos à fumaça de cigarro); ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinentes à fumaça de cigarro); ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinentes à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média \pm epm. ANOVA univariada, seguida de pós- teste Newman-Keuls.* e [#] p<0.05. * F7S vs F19S, ABS7S vs ABS19S. [#] F7S vs ABS7S, F19S vs ABS19S.

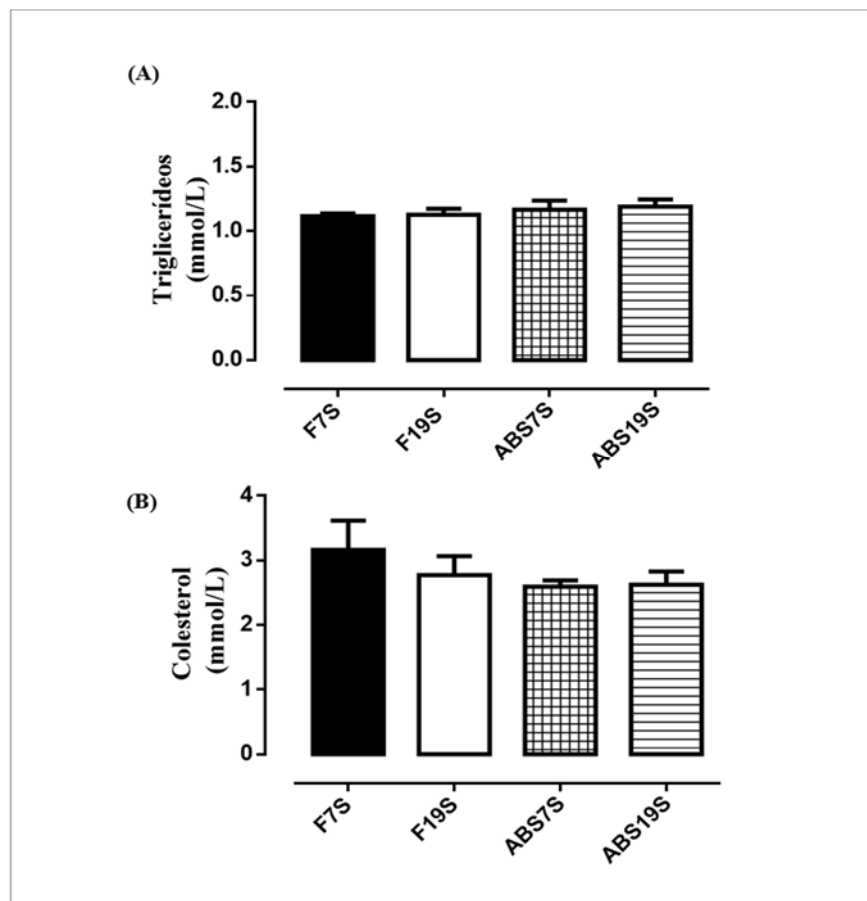
Fonte: A autora, 2017.

5.2.6 Triglicerídeos e colesterol plasmáticos

Não houve diferença significativa na concentração de triglicerídeo plasmático entre os grupos expostos à fumaça de cigarro e após abstinência, independentemente da dieta ingerida (F7S= $1,11 \pm 0,02$ mmol/L; F19S= $1,12 \pm 0,04$ mmol/L; ABS7S= $1,16 \pm 0,07$ mmol/L; ABS19S= $1,19 \pm 0,05$ mmol/L). Estes resultados estão demonstrados na Figura 8-A.

O colesterol plasmático não apresentou diferença significativa entre os grupos (F7S= $3,16 \pm 0,45$ mmol/L; F19S= $2,77 \pm 0,29$ mmol/L; ABS7S= $2,59 \pm 0,09$ mmol/L; ABS19S= $2,62 \pm 0,20$ mmol/L). Estes resultados podem ser observados na Figura 8-B.

Figura 8 - Concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol de camundongos fêmeas



Legenda: Concentrações plasmáticas (A) Triglicerídeos e (B) Colesterol de camundongos fêmeas, após períodos de exposição à fumaça de cigarro e abstinência. F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e expostos à fumaça de cigarro), F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e expostos à fumaça de cigarro), ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinente à fumaça de cigarro), ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinente à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós-teste Newman-Keuls.

Fonte: A autora, 2017.

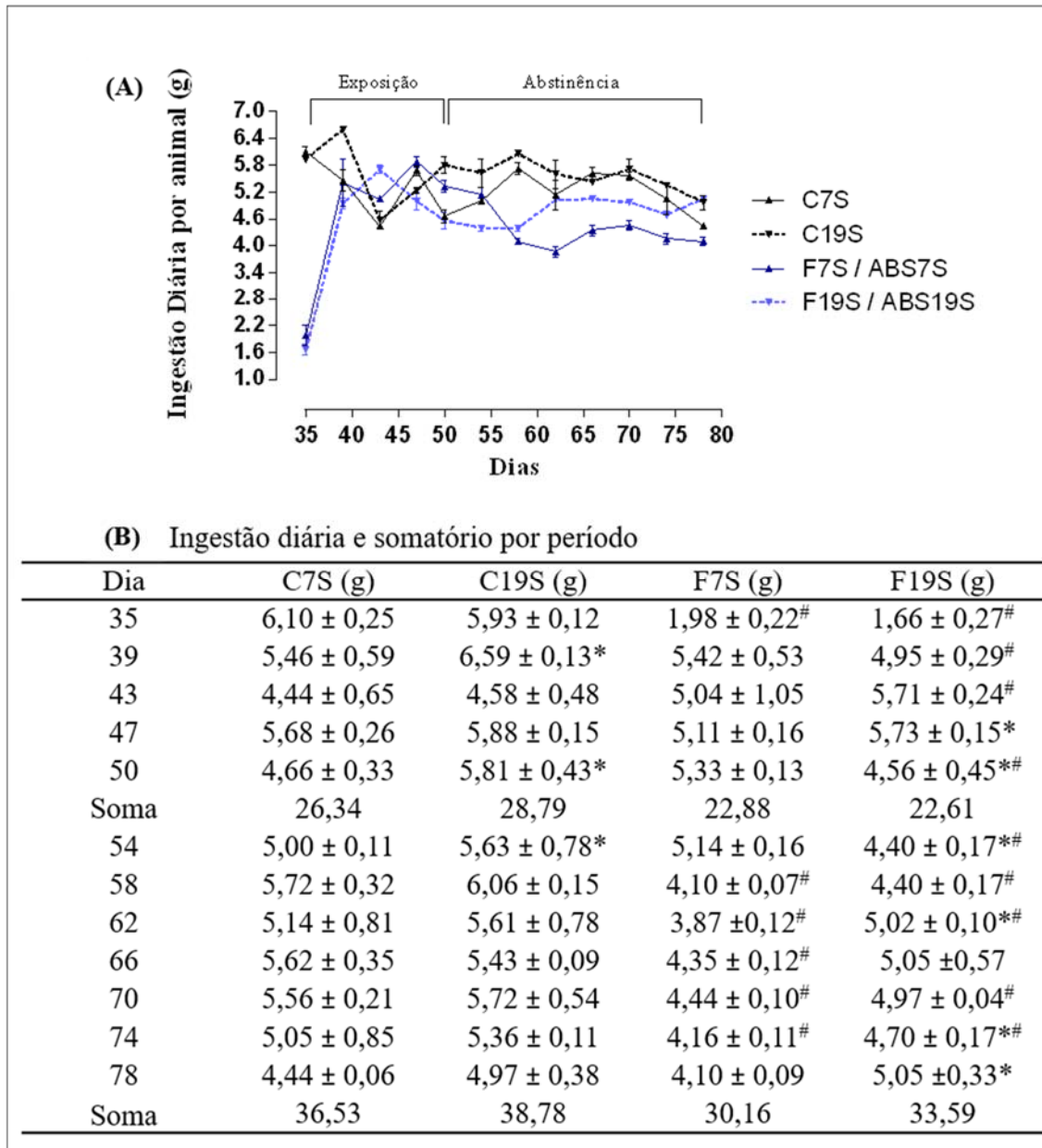
5.3 Dados de camundongos machos, do período de exposição à fumaça de cigarro até o final do período de abstinência

5.3.1 Ingestão alimentar

Entre os dias 35- 50, período de exposição à fumaça, a ingestão diária mostrou que os grupos fumantes, F7S e F19S, consumiram menor quantidade de ração. A variação entre os grupos no consumo de dieta normo e hiperlipídica, sugere semelhança, considerando a ingestão acumulada. Em relação aos controles, o grupo C19S apresentou maior ingestão que o C7S, sendo estatisticamente diferente nos dias 39 e 50. A soma de consumo diário sugere um maior consumo para o grupo C19S. Entre os animais expostos e não-expostos, com a mesma dieta, não houve diferença significativa entre os grupos C7S e F7S, exceto para o primeiro dia de exposição. No entanto, entre C19S e F19S, o grupo fumante pareceu ingerir menor quantidade de ração no início e ao final do período de observação, aos 39 e aos 50 dias pós-natal.

No período de abstinência, a soma da ingestão diária mostrou mais uma vez que os grupos ex-fumantes, ABS7S e ABS19S, consomem menor quantidade de ração, sendo menor no grupo ABS7S. O padrão de ingestão entre grupos controle, C7s e C19S mostrou semelhança. Esta evolução pode ser observada na Figura 9.

Figura 9 - Ingestão alimentar de camundongos machos



Legenda: (A) Gráfico da evolução da ingestão alimentar e (B) Ingestão alimentar diária e o somatório, em camundongos machos, durante períodos de exposição à fumaça de cigarro e abstinência. C7S (n= 12, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=12, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=12, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=12, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA bivariada, seguida de pós-teste Bonferroni. * e [#] p<0,05. * C7S vs C19S, F7S vs F19S. [#] C7S vs F7S, C19S vs F19S.

Fonte: A autora, 2017.

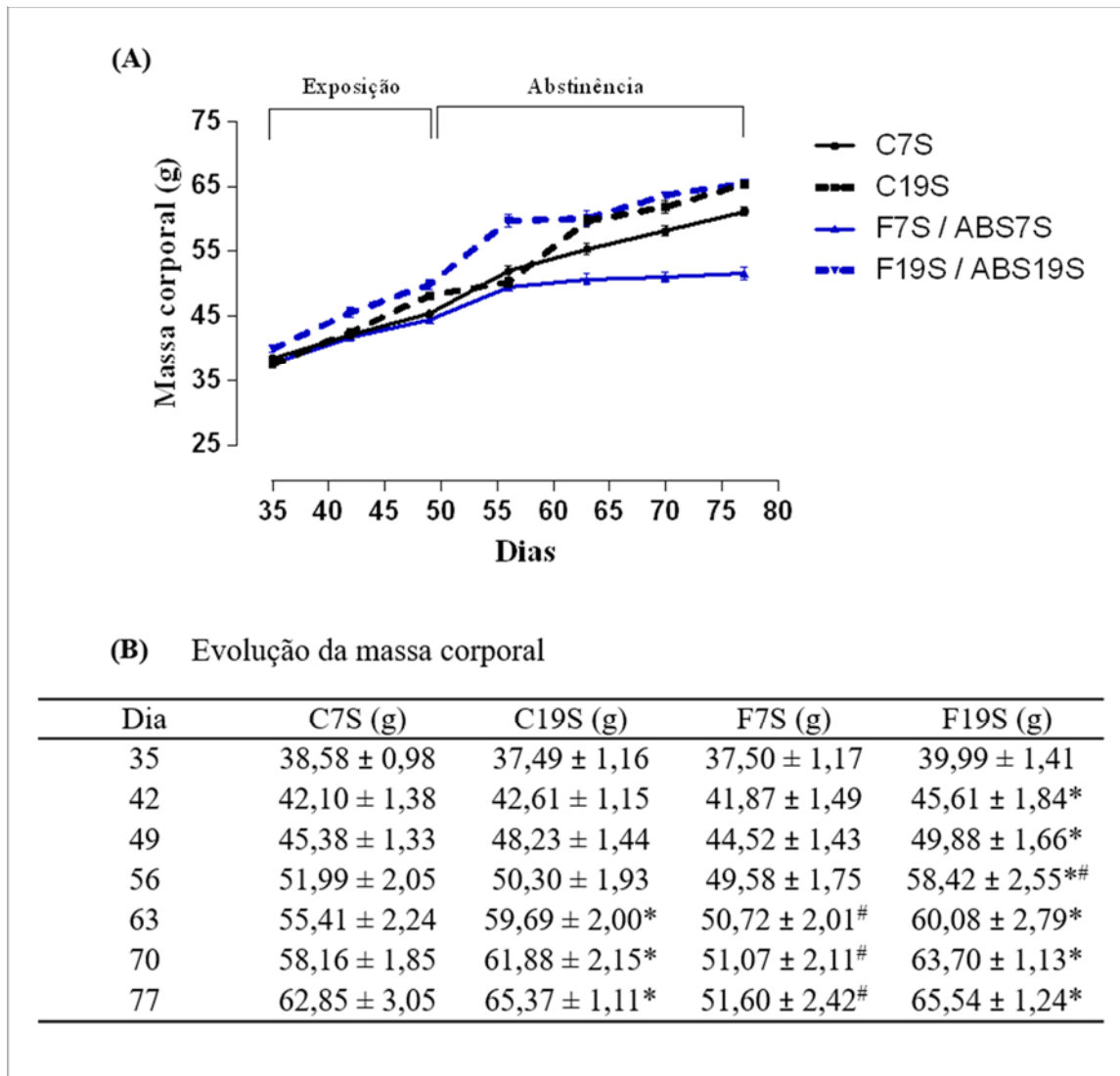
5.3.2 Massa corporal

De maneira geral, do período de exposição à fumaça até o final da abstinência os animais alimentados com dieta hiperlipídica mostram maior massa corporal que os alimentados com dieta normolipídica. O ganho de massa dos grupos alimentados com dieta hiperlipídica não diferiu no período de exposição (C19S= 28% e F19S= 24%). Em relação ao período de abstinência, só houve diferença significativa entre os grupos C19S e ABS19S aos 56 dias, sendo o ganho de massa corporal semelhante entre os grupos (C19S= 35% e ABS19S= 31%).

A alimentação com dieta normolipídica não alterou a massa entre C7S e F7S durante o período de exposição à fumaça (C7S=17% e F7S= 18%). Durante o período de abstinência, a partir do dia 63, o grupo ABS7S apresentou menor massa que o grupo C7S, até o final do período e se tornou o grupo com menor ganho peso corporal (C7S=38% e ABS7S=15%).

A evolução da massa corporal pode ser observada na Figura 10.

Figura 10 - Evolução da massa corporal de camundongos machos



Legenda: (A) Gráfico da evolução da massa corporal e (B) Evolução da massa corporal, em camundongos machos, durante os períodos de exposição à fumaça de cigarro e abstinência. C7S (n= 12, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=12, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=12, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=12, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA bivariada, seguida de pós-teste Bonferroni.* e # p<0,05. * C7S vs C19S, F7S vs F19S. # C7S vs F7S, C19S vs F19S.

Fonte: A autora, 2017.

5.3.3 Avaliação da composição corporal por DXA

5.3.3.1 Tecidos moles

Após a exposição, os conteúdos de gordura não mostraram diferença significativa entre os grupos normolipídicos e hiperlipídicos, exceto, em relação à massa gorda de F19S, que foi maior que no grupo F7S, sendo ambos maiores que seus respectivos controles, C19S e C7S.

Aos 80 dias pós-natal, animais do grupo controle, C7S e C19S, permaneceram semelhantes entre si. Nos animais expostos houve maior massa gorda, gordura do tronco e percentuais de gordura em ABS19S, comparado ao ABS7S. O grupo ABS7S, se consolidou como o grupo com menores valores de indicadores de adiposidade entre todos os grupos. Os percentuais de gordura total e do tronco dos grupos ABS se tornaram menores que dos grupos controles, C7S e C19S. Em relação à massa magra, animais do grupo F7S e F19S apresentaram os maiores valores em ambos os períodos avaliados (Tabela 8).

Tabela 8 – Análise de tecidos moles

Após Exposição	C7S	C19S	F7S	F19S
Massa gorda (g)	15,00 ± 1,53	14,00 ± 1,73	19,69 ± 1,17 [#]	29,50 ± 2,26* [#]
Massa magra (g)	17,33 ± 0,88	15,33 ± 2,91	23,00 ± 0,73 [#]	23,83 ± 1,44 [#]
Gordura do tronco (g)	7,00 ± 1,53	9,67 ± 2,41	7,83 ± 0,65	10,40 ± 1,03
% Gordura do tronco	43,07 ± 4,50	47,33 ± 7,83	41,98 ± 2,93	50,22 ± 3,09
% Gordura corporal total	46,43 ± 4,05	54,75 ± 6,55	47,43 ± 2,61	55,07 ± 2,83
Após Abstinência	C7S	C19S	ABS7S	ABS19S
Massa gorda (g)	41.67 ± 2.03	40.33 ± 1.67	19.25 ± 2.46 [#]	33.17 ± 2.24*
Massa magra (g)	17.33 ± 0.66	19.33 ± 2,03	26.83 ± 1.58 [#]	26.50 ± 1.33 [#]
Gordura do tronco (g)	19.67 ± 0.33	16.67 ± 4.41	7.50 ± 2.03 [#]	11.50 ± 1.38*
% Gordura do tronco	70.23 ± 0.43	63.3 ± 3.31	36.80 ± 5.16 [#]	50.70 ± 1.84* [#]
% Gordura corporal	70.80 ± 0.36	67.50 ± 2.41	41.10 ± 4.35 [#]	55.10 ± 1.93* [#]

Legenda: C7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=6, grupo alimentado com dieta

hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós-teste Newman-Keuls.* e # p<0.05. * F7S vs F19S. # C7S vs F7S, C19S vs F19S.

Fonte: A autora, 2017.

5.3.3.2 Ossos

Após exposição à fumaça de cigarro não houve diferença entre os grupos dieta-dependente, em relação à CMO, AO e DMO. Os grupos expostos à fumaça, F7S e F19S, apresentaram maiores DMO totais que seus respectivos controles, C7S e C19S. O CMO total também foi maior nos animais F7S.

Após a abstinência, os indicadores ósseos permaneceram semelhantes entre os grupos, exceto pelo CMO total que foi menor no grupo ABS7S em relação ao C7S (Tabela 9).

Tabela 9 - Indicadores de integridade óssea

Após Exposição	C 7S	C 19S	F 7S	F 19S
CMO total (g)	0,700 ± 0,100	0,800 ± 0,100	1,067 ± 0,056 [#]	1,050 ± 0,081
Área óssea total (cm²)	11,67 ± 1,667	12,00 ± 1,53	13,50 ± 0,922	13,33 ± 0,882
DMO total (g/cm²)	0,061 ± 0,001	0,065 ± 0,002	0,078 ± 0,001 [#]	0,0800 ± 0,001 [#]
Após Abstinência	C 7S	C 19S	ABS 7S	ABS 19S
CMO total (g)	1,533 ± 0,066	1,200 ± 0,100	1,083 ± 0,075 [#]	1,217 ± 0,054
Área óssea total (cm²)	18,33 ± 0,667	14,67 ± 1,667	14,00 ± 1,238	15,17 ± 1,046
DMO total (g/cm²)	0,082 ± 0,001	0,081 ± 0,003	0,081 ± 0,003	0,082 ± 0,001

Legenda: C7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro), ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinentes à fumaça de cigarro), ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinentes à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós-teste Newman-Keuls.* e # p<0,05. * C7S vs C19S, F7S vs F19S, ABS7S vs ABS19S. # C7S vs F7S ou ABS7S, C19S vs F19S ou ABS19S.

Fonte: A autora, 2017.

5.3.4 Massa dos tecidos adiposos

Após período de exposição, as massas de gordura visceral e subcutânea foram maiores nos grupos alimentados com dieta hiperlipídica, C19S e F19S, quando comparados a seus respectivos controles, C7S e F7S. O grupo F19S apresentou maior acúmulo de gordura subcutânea que os demais grupos.

Após abstinência, o grupo ABS7S apresentou os menores valores de massa de ambos os compartimentos analisados. Por outro lado, o grupo ABS19S apresentou maiores valores para os compartimentos visceral e subcutâneo, em relação ao ABS7S (Tabela 10).

Tabela 10 - Massa dos tecidos adiposos

Após Exposição	C7S	C19S	F7S	F19S
Visceral (g)	1,38 ± 0,24	2,03 ± 0,13*	1,63 ± 0,13	2,24 ± 0,04*
Subcutâneo (g)	0,84 ± 0,02	1,74 ± 0,11*	0,99 ± 0,11	2,73 ± 0,21*#
Após Abstinência	C7S	C19S	ABS7S	ABS19S
Visceral (g)	1,71 ± 0,07	-	1,57 ± 0,47	4,22 ± 0,91*
Subcutâneo (g)	2,49 ± 0,46	-	0,71 ± 0,11#	2,68 ± 0,07*

Legenda: C7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), C19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica, sem exposição à fumaça de cigarro), F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e exposto à fumaça de cigarro), F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e exposto à fumaça de cigarro); ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinente à fumaça de cigarro), ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinente à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós-teste Newman-Keuls. * e # p<0,05. * C7S vs C19S, F7S vs F19S, ABS7S vs ABS19S. # C7S vs F7S ou ABS7S, C19S vs F19S ou ABS19S.

Fonte: A autora, 2017.

5.3.5 Indicadores de resistência à insulina

A glicemia de jejum apresentou maiores valores nos grupos F19S e ABS19S, em relação a seus respectivos controles, F7S e ABS7S. A exposição à fumaça de cigarro determinou maior valor de glicemia no grupo alimentado com dieta hiperlipídica, F19S. A concentração plasmática de insulina foi significativamente maior no grupo F19S em relação ao F7S e não diferiu das concentrações determinadas após abstinência.

O HOMA-IR apresentou o mesmo padrão que a glicemia de jejum, maiores valores nos grupos F19S e ABS19S, em relação a seus respectivos controles, F7S e ABS7S. A exposição a fumaça provocou maior índice de resistência a insulina no grupo alimentado com dieta hiperlipídica, F19S.

O HOMA- β , não diferiu estatisticamente entre os grupos, embora após abstinência, ABS7 e ABS19 tenham apresentado os maiores valores que F7S e F19S. Estes resultados estão presentes na Tabela 11.

Tabela 11- Indicadores de resistência à insulina

Indicadores glicêmicos	F7S	F19S	ABS7S	ABS19S
Glicemia (mmol/L)	7,10 ± 0,23	9,78 ± 0,28*	6,28 ± 0,35	7,80 ± 0,32*#
Insulina (mUI/mL)	20,92 ± 2,51	35,14 ± 3,50*	29,13 ± 2,43	28,09 ± 2,34
HOMA-IR	7,90 ± 1,00	17,50 ± 2,61*	6,01 ± 0,99	12,06 ± 0,89*#
HOMA- β	120,4 ± 9,87	100,0 ± 8,98	160,2 ± 18,77	142,7 ± 15,99

Nota: F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e expostos à fumaça de cigarro); F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e expostos à fumaça de cigarro); ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinentes à fumaça de cigarro); ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinentes à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós- teste Newman-Keuls.* e # p<0,05. * F7S vs F19S, ABS7S vs ABS19S. # F7S vs ABS7S, F19S vs ABS19S.

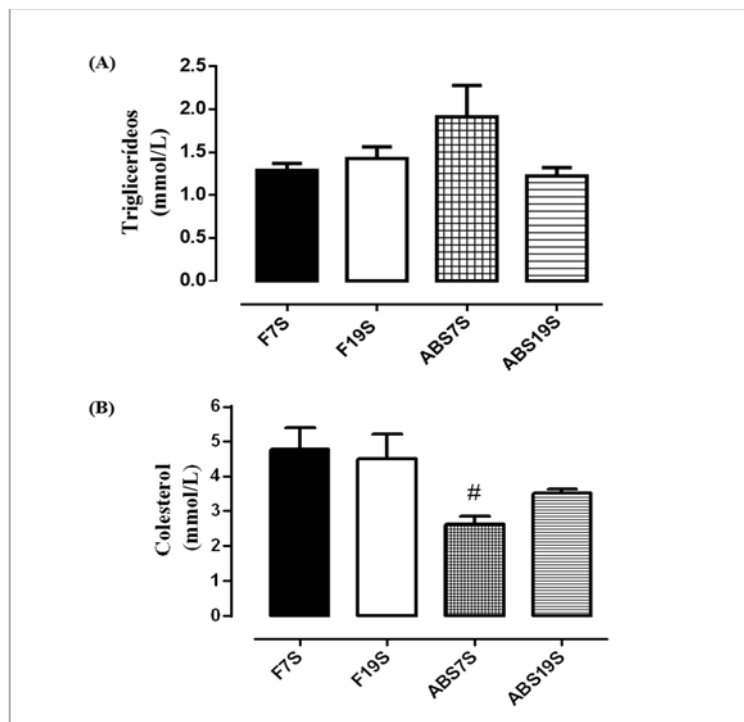
Fonte: A autora, 2017.

5.3.6 Triglicerídeos e colesterol plasmáticos

A concentração plasmática de triglicerídeo não diferiu entre os grupos expostos à fumaça de cigarro e os grupos abstinentes, independentemente da dieta (F7S= $1,28 \pm 0,08$ mmol/L; F19S= $1,42 \pm 0,14$ mmol/L; ABS7S= $1,91 \pm 0,09$ mmol/L; ABS19S = $1,22 \pm 0,09$ mmol/L). Estes dados estão representados na Figura 11-A.

O grupo alimentado com dieta normolipídica, ABS7, apresentou após abstinência, concentração de colesterol 45% menor do que durante a exposição (F7S= $4,77 \pm 0,61$ mmol/L; F19S= $4,50 \pm 0,72$ mmol/L; ABS7S= $2,61 \pm 0,25$ mmol/L; ABS19S= $3,51 \pm 0,11$ mmol/L). Este resultado pode ser observado na Figura 11-B.

Figura 11 - Concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol de camundongos machos



Legenda: Concentrações plasmáticas (A) Triglicerídeos e (B) Colesterol de camundongos machos, após períodos de exposição à fumaça de cigarro e abstinência. F7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e expostos à fumaça de cigarro), F19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e expostos à fumaça de cigarro), ABS7S (n=6, grupo alimentado com dieta normolipídica e abstinentes à fumaça de cigarro), ABS19S (n=6, grupo alimentado com dieta hiperlipídica e abstinentes à fumaça de cigarro). Valores são expressos em média±epm. ANOVA univariada, seguida de pós-teste Newman-Keuls. #p<0,05, F7S vs ABS7S, F19S vs ABS19S.

Fonte: A autora, 2017.

6 DISCUSSÃO

Este estudo buscou verificar o efeito combinado de dois fatores prejudiciais a saúde – o tabagismo e o consumo de dieta hiperlipídica - que levam a comorbidades e a alto índice de mortalidade, em nível mundial. Fêmeas e machos foram incluídos no presente estudo dando a possibilidade de acompanhar a resposta associada ao sexo e aos fatores combinados, como está reunido nos Apêndices A, B e C. Assim, indicadores do perfil metabólico e ósseo de camundongos foram analisados a partir do desmame, fase precoce da vida, quando são influenciados por mudanças na composição da dieta. Ainda na adolescência, mantendo a alimentação com dieta hiperlipídica, passam por um período de exposição à fumaça de cigarro, que é seguida de período de abstinência, enquanto adultos jovens.

Os efeitos diretos da nicotina em adolescentes e adultos, sobre o potencial de dependência ou ainda sobre o comportamento de animais jovens, são relatados em diversos estudos experimentais, apontando uma maior sensibilidade do cérebro jovem à nicotina e sua influência em processos como memória e aprendizagem (LEVIN *et al*, 2003; VASTOLA *et al*, 2002; BELLUZZI *et al*, 2004; BRIELMAIER *et al*, 2007; ABREU-VILLAÇA *et al*, 2013).

No entanto, a literatura é escassa em informações quanto a influência da exposição à fumaça de cigarro em organismos jovens, quando relacionado ao metabolismo, a composição corporal e a integridade óssea. Estes dados são ainda mais raros quando se busca a associação de tabagismo com dieta hiperlipídica, e os consequentes efeitos da abstinência, seja em animais jovens ou em adultos.

Dietas hiperlipídicas, contendo óleo de soja como fonte de lipídios, vêm sendo utilizada em ratos Wistar para avaliação de crescimento, desenvolvimento e metabolismo em nosso laboratório (COSTA *et al*, 2011; 2013; 2015). O óleo de soja, além de ser designado como a fonte lipídica para a composição de rações para roedores é, também, a principal fonte utilizada pela população brasileira. Dessa forma, a escolha pela fonte lipídica para a composição das dietas normo e hiperlipídica, se aproxima da realidade do padrão de consumo das populações. Seguindo este mesmo raciocínio, pelo tipo de processamento dos alimentos para consumo, o percentual de 19% (19g de óleo/ 100g de ração) parece ser adequado ou compatível com o que é utilizado no dia-a-dia e se enquadra na classificação de dieta hiperlipídica; ou seja, contém 39% de kcal proveniente dos lipídios, estando na faixa considerada hiperlipídica que é de 30-50% (FELLMANN *et al*, 2013).

Considerando que o consumo de diferentes dietas manipuladas ocorreu a partir do desmame, aos 21 dias de vida, e que o período de exposição à fumaça teve início aos 35 dias, foram analisados alguns indicadores de composição corporal *in vivo* com a finalidade de definir o perfil basal destes camundongos, fêmeas e machos, antes da exposição à fumaça de cigarro. Apesar de uma tendência à maior ingestão alimentar pelo grupo de fêmeas alimentadas com dieta normolipídica, 7S, esse maior consumo só se tornou significativo no dia 32, e não se refletiu em diferença na massa corporal, entre os grupos 7S e 19S, mostrando que durante o período inicial de troca de alimentação, a diferença entre as dietas não foi um fator de influência sobre o ganho corporal, nem sobre a composição corporal, avaliada por DXA. Nos machos, o tipo de dieta não exerceu qualquer influência sobre a ingestão alimentar, ganho de massa corporal ou composição corporal neste período.

A comparação da resposta pós-desmame entre fêmeas e machos, mostra que apesar de apresentarem uma massa corporal semelhante aos 21 dias e manterem consumo semelhante até os 35 dias, os machos terminam essa etapa com massa corporal significativamente maior que as fêmeas. Isso se reflete na composição corporal, para o que as fêmeas apresentam maior percentual de gordura total e de tronco, enquanto os machos têm maiores massas gorda e magra. Em relação à estrutura óssea, apesar da maior AO total nos machos, a DMO não difere entre os sexos.

A exposição à fumaça de cigarro se iniciou aos 35 dias de vida. Previamente, foi observado em nosso laboratório, que o início da puberdade em camundongos suíços fêmeas ocorre entre o 33º e o 34º dia de vida, comprovado através da abertura vaginal e início da ciclicidade ovariana, determinada pela avaliação do esfregaço vaginal (PAIXÃO, 2011), o que está dentro do previsto na literatura para o início da puberdade de camundongos suíços fêmeas (IAVICOLI *et al*, 2004). Também já foi estabelecido que no período entre o 30º e o 40º dia de vida, camundongos, de ambos os sexos, apresentam características comportamentais típicas de puberdade e padrões neuroquímicos e endócrinos específicos, quando comparados com outras idades (SPEAR, 2000; ABREU-VILAÇA *et al*, 2010). Assim, partindo de dados pré-estabelecidos, a idade de 35 dias de vida foi definida para ao início da exposição à fumaça de cigarro, para ambos os sexos; com a garantia que estariam na puberdade e em período próximo a alcançar a maturidade sexual (SANTOS, 2002).

A partir do 35º dia, a ingestão de dieta manipulada foi associada à exposição à fumaça de cigarro. Embora as fêmeas expostas, F7S e F19S, tenham apresentado ingestão semelhante, a alimentação com dieta hiperlipídica sugere maior consumo para os grupos C19S e F19S. Dados sobre ingestão alimentar em roedores não mostram uma resposta padrão.

Grande parte dos estudos reforça os efeitos em humanos, nos quais a exposição ao tabaco/nicotina leva à redução do apetite, por conta dos efeitos anorexigênicos da nicotina, os quais foram observados em estudos com ratas adultas, para diferentes concentrações de nicotina administradas (GRUNBERG *et al*, 1987; WINDERS *et al*, 1989; BISHOP *et al*, 2004). Entretanto, cabe ressaltar que a literatura carece de informações sobre o início da exposição na adolescência. Entre os poucos trabalhos encontrados para tal período da vida, Faraday *et al* (2001) não observaram alteração na ingestão alimentar de ratas adolescentes expostas à nicotina, via minibombas osmóticas subcutâneas. Portanto, o aumento da ingestão no período de exposição, em momentos pontuais, demonstra que em camundongos fêmeas jovens a exposição à fumaça do cigarro pode promover picos de hiperfagia independentes da dieta consumida. Por outro lado, o ganho de massa corporal apresentou relação direta com o tipo de dieta e com a exposição. Ou seja, os grupos alimentados com dieta hiperlipídica ganharam mais massa corporal e, a exposição tornou o ganho total do grupo F19S menor do que do grupo C19S.

A resposta dos machos à exposição à fumaça de cigarros determinou menor ingestão alimentar total, independente do tipo de dieta. Portanto, o efeito anorexigênico da nicotina reduziu o consumo de ração nos camundongos machos e parece não ser muito alterado pela composição da dieta. Já foi relatado que dietas hiperlipídicas, por serem altamente palatáveis, podem promover hiperfagia (GALLOU-KABANI *et al*, 2007; HEYNE *et al*, 2009). Em nossos estudos prévios esse efeito não foi evidenciado quando ratos machos foram alimentados com dieta hiperlipídica, contendo 19% de óleo de soja (COSTA *et al*, 2011; 2013). Entretanto, foi observado nos animais controles que a dieta rica em óleo de soja promoveu, sim, um aumento no consumo alimentar em ambos os sexos. Além disso, estudos realizados em camundongos machos adultos (CHEN *et al*, 2007, HUR *et al*, 2010) mostraram que a administração de nicotina associada a alimentação com dieta hiperlipídica, altamente energética, reduz a ingestão alimentar. No presente estudo, portanto, os machos também apresentaram este padrão de consumo. No entanto, não houve alteração para as fêmeas, que permaneceram comendo a mesma quantidade de ração hiperlipídica durante a exposição à fumaça.

Os mecanismos pelos quais a exposição ao cigarro está relacionada à redução de massa corporal são o aumento do gasto energético e a inibição do aumento compensatório esperado na ingestão alimentar. Este aumento do gasto energético está relacionado tanto aos efeitos diretos da nicotina sobre os tecidos, em grande parte mediados pelas catecolaminas, quanto por seus efeitos sobre os circuitos neuroendócrinos do sistema nervoso central, onde,

no cérebro, os efeitos da nicotina levam a supressão do apetite (AUDRAIN-MCGOVERN & BENOWITZ, 2011). Este padrão de resposta parece ser o ocorrido com o grupo de fêmeas expostas, sugerindo o controle da nicotina sobre o ganho de massa corporal, independente do tipo de ração ingerida. Por outro lado, nos machos expostos, a menor ingestão não refletiu sobre a massa corporal, uma vez que apresentaram percentual de ganho de peso semelhante ao dos controles. Este achado difere dos estudos realizados com camundongos machos adultos da linhagem C57BL6 que mostraram inibição no ganho de peso, quando da administração de nicotina e dieta hiperlipídica altamente energética, durante 7 semanas. Nestes, apesar de maior massa corporal que os animais alimentados com dieta normolipídica, o ganho de massa corporal foi menor do que registrado nos animais apenas alimentados com dieta hiperlipídica, mas não expostos (MANGUBAT *et al*, 2012; SINHA-HIKIM *et al*, 2014). As diferenças encontradas entre machos e fêmeas sugerem um efeito inverso sobre o gasto energético, sendo menor nos machos. Estes resultados corroboram com os dados da literatura que afirmam que fêmeas são mais sensíveis aos efeitos da nicotina sobre a redução de peso (GRUNBERG *et al*, 1987). Isso faz pensar que a idéia do tabagismo como repressor de ganho de massa corporal, deve levar em conta a fase da vida e o sexo.

No período de abstinência, a dieta hiperlipídica passou a exercer maior influência sobre a ingestão alimentar das fêmeas expostas à fumaça, já que o grupo ABS19S teve o maior consumo e menor massa corporal que C19S, sugerindo que o efeito da nicotina sobre o gasto energético é mantido. No entanto, essa não foi a resposta apresentada pelos machos, já que o grupo ABS19S, apresentou menor ingestão, mas a dieta hiperlipídica determinou ganho de massa corporal semelhante entre ABS19S e C19S. Por outro lado, os animais alimentados com dieta normolipídica - ABS7S, fêmeas e machos, além de menor ingestão também tiveram o menor ganho de massa corporal. Esse resultado mostra que, em camundongos machos jovens, o tipo de dieta associado ao tabagismo influencia diretamente o metabolismo energético, diferenciando o ganho de massa corporal. Assim, com dieta normolipídica, a baixa ingestão está relacionada ao baixo ganho, enquanto com dieta hiperlipídica, a baixa ingestão configura grande ganho de massa corporal.

Estudos realizados com humanos tabagistas indicam que a abstinência ao cigarro está associada a um aumento do consumo de 250-300 kcal/ dia, imediatamente após a cessação e, pode permanecer por um longo prazo. Em mulheres, o aumento de consumo dá preferência por alimentos ricos em gordura e carboidratos, o que determina que as mulheres sejam afetadas logo nos primeiros seis meses de abstinência, com maior ganho de massa corporal (CAAN *et al*, 1996, WARD *et al*, 2001). Além disso, mulheres fumantes possuem maior

procura por alimentos altamente energéticos quando comparadas com mulheres não fumantes (PEPINO *et al*, 2009). Comportamento semelhante foi observado em nossos resultados na abstinência, quando os efeitos do tabaco permaneceram após cessação da exposição, com o maior consumo de dieta hiperlipídica dos animais previamente expostos à fumaça, principalmente, logo após cessação da exposição. Estudos mostram que, na ausência da nicotina, seus efeitos diretos no cérebro sobre a redução do apetite são suprimidos, resultando em aumento da fome (AUDRAIN-MCGOVERN & BENOWITZ, 2011). Entretanto, apesar do maior consumo de dieta hiperlipídica, as fêmeas em abstinência não apresentaram maior massa corporal que os controles. O efeito anorexigênico da nicotina tende a ser revertido após a cessação da exposição ao cigarro, refletindo em um maior ganho de peso, principalmente, em indivíduos com índices de massa corporal baixos ou muito elevados. Outro estudo mostra que apenas cerca de 25% dos casos de indivíduos abstinentes mantêm peso corporal adequado, sem o ganho característico deste período (KLESGES *et al*, 1997). Nossos resultados mostraram que, em fêmeas, os efeitos da nicotina permaneceram regulando a ingestão alimentar e a massa corporal de animais que ingeriram dieta normolipídica, mesmo que na ausência da exposição. Mas que, na abstinência associada a dieta hiperlipídica, houve hiperfagia, e por outro lado a redução na massa corporal. Apesar de não realizarmos análises de gasto energético ou neuroendócrinas, sugerimos que a diferença evidenciada possa estar relacionada com estes fatores.

O conteúdo e a distribuição de adiposidade evidenciam que durante o período de exposição, nem a dieta nem a fumaça de cigarro promoveram efeitos imediatos nas fêmeas. Apesar de uma tendência a maior quantidade de massa gorda, há também a maior quantidade de massa magra nos animais expostos à fumaça, o que explica a tendência a menores percentuais de gordura corporal. A acurácia do DXA para determinar composição corporal é reconhecida, enquanto a pesagem é uma medida complementar para a avaliação de compartimentos do tecido adiposo. Com a pesagem, ficou evidenciado que a exposição à fumaça influencia o acúmulo de tecido adiposo e, determina menores massas de gordura visceral e subcutânea, nos animais alimentados com dieta normolipídica. Além disso, animais do grupo F19S apresentaram quantidade reduzida de gordura visceral, quando comparados ao do grupo C19S. Apesar dos conflitos sobre a influência do tabagismo sobre a adiposidade abdominal, têm-se demonstrado que ele leva ao acúmulo de gordura nos adipócitos abdominais, através do aumento dos níveis de cortisol e da atividade da lipoproteína lipase, aumentando a captação e armazenamento de ácidos graxos, na forma de triglicerídeos, conseqüentemente, aumentando a massa gorda. Além disso, em mulheres, o fumo pode

influenciar os hormônios sexuais, aumentando a concentração de androgênios o que também contribuiria para o aumento da gordura visceral (CARNEY & GOLDBERG, 1984; CANOY *et al*, 2005; CHIOLERO *et al*, 2008). Sugere-se que o tabaco tenha um efeito antiestrogênico e/ou, seja capaz de aumentar a concentração de andrógenos, resultando em alta relação andrógeno/estrógeno, favorecendo a deposição da gordura na região abdominal (FREEDMAN *et al*, 1999). No presente estudo não foi observado esse perfil de aumento de adiposidade visceral, mesmo em animais alimentados com dieta hiperlipídica. A investigação hormonal possivelmente ajudaria na correlação deste achado. É possível que, em fêmeas jovens influenciadas pelos esteróides sexuais femininos, presentes pelo estado de maturidade sexual alcançado, a exposição à fumaça promova menores depósitos de tecido adiposo visceral e, em especial, do subcutâneo quando associado a uma alimentação equilibrada.

Nos machos, o ganho de massa corporal de F19S está diretamente relacionado com a massa gorda total acumulada e com o acúmulo de gordura no compartimento subcutâneo, mostrando que a dieta hiperlipídica possui maior efeito na deposição deste tecido na presença do fumo. Enquanto o grupo F7S, apesar de menor ingestão alimentar e massa corporal, apresenta maior massa gorda total que seu controle, C7S. Interessante destacar que ambos os grupos expostos à fumaça de cigarro apresentaram maiores valores de massa gorda que seus respectivos controles, sem exposição. Portanto, contrário aos dados da literatura, o aumento da gordura visceral não ocorreu em todos os animais expostos, apenas nos que consumiam dieta hiperlipídica. E, diferentemente de Kim *et al* (2012), no qual apresentou maior deposição de gordura subcutânea também nos animais do grupo F19S. Estes dados diferem dos encontrados por Mangubat *et al* (2012), que através do DXA e tomografia computadorizada mostraram que o tratamento com nicotina e alimentação com dieta hiperlipídica, em camundongos machos adultos, levam a menor gordura corporal, visceral e subcutânea que o grupo sem receber nicotina. Para estes, sugerimos que a diferente resposta esteja relacionada ao desenho experimental utilizado. Estudos em humanos sugerem que a fumaça de cigarro aumenta a obesidade abdominal (BARRETT-CONNOR & KHAW, 1989; BAMIA *et al*, 2004; CANOY *et al*, 2005), sendo este aumento primariamente associado ao aumento da gordura visceral (KIM *et al*, 2012).

Aos 80 dias de vida, após o período de abstinência, fêmeas e machos tendem a expressar valores menores de massa gorda do que os grupos controle. No entanto, a pesagem dos compartimentos adiposos, em fêmeas, aponta para um maior acúmulo de gordura visceral e subcutânea no grupo ABS19S. As respostas dos compartimentos adiposos nas fêmeas alimentadas com dieta hiperlipídica sugerem que, durante a exposição à fumaça, ocorra um

efeito inibidor sobre o acúmulo de gordura visceral, mas não influencie a gordura subcutânea. Por outro lado, na abstinência, o efeito sobre o compartimento visceral parece desaparecer, o que desencadeia grande aumento principalmente deste compartimento adiposo. A discussão relacionada aos compartimentos adiposos visceral e subcutâneo não pode ser realizada nos machos, posto que uma falha técnica comprometeu a avaliação no grupo C19S. O efeito da nicotina sobre a redução de gordura corporal só foi observado com a abstinência. A similaridade apresentada entre os grupos não expostos à fumaça, C7S e C19S, quanto à ingestão alimentar e massa corporal, se manteve corroborando a adiposidade do DXA após a exposição e após abstinência, indicando que, no período avaliado, os animais jovens não foram influenciados pela composição da dieta para esse indicadores.

O aumento da massa magra em resposta à exposição e à abstinência foi semelhante em fêmeas e machos, independentemente da dieta ingerida. Em dois estudos utilizando camundongos machos, foi observado o efeito contrário. Mangubat *et al* (2012) utilizando injeção de nicotina e dieta hiperlipídica verificou a redução da massa magra dos animais. Enquanto, Hansen *et al* (2013) após exposição à fumaça de cigarro associada a alimentação com dieta de cafeteria em camundongos machos BALB/c por 7 semanas, evidenciaram menor massa magra, menores massas de músculos esqueléticos, além de menor concentração de IGF-1 plasmático. Por outro lado, um estudo mais recente (WU *et al*, 2015), também realizado com camundongos machos adultos alimentados com dieta hiperlipídica e infundidos com nicotina verificou a diminuição da adiposidade sem alteração de massa magra, a partir de análise por ressonância magnética. Considerando que os estudos que utilizam metodologia semelhante analisam principalmente roedores machos, sugerimos que nos camundongos fêmeas a resposta induzida à massa magra seja semelhante a dos machos. Estudos *in vivo* procuram investigar, principalmente, as características de músculo esquelético em animais adultos submetidos a exposição à fumaça de cigarro, mas poucos analisam a massa magra total, que é observada através da análise do DXA, que contém, além do músculo esquelético, outros componentes como água, tecido conjuntivo e órgãos internos. Portanto, o aumento na massa magra observado no presente estudo pode estar relacionado ao aumento destas outras estruturas e não necessariamente ao tecido muscular, principalmente esquelético, sugerindo a necessidade de maiores investigações sobre este compartimento quando da exposição à fumaça de cigarro.

Na literatura é bem descrito que o tabagismo é responsável por danos musculares, principalmente durante o uso pesado, sejam eles metabólicos ou estruturais, como atrofia de fibras musculares (MONTES DE OCA *et al*, 2008;). Além disso, estudos epidemiológicos

realizados com população idosa mostram o elevado risco de sarcopenia associado ao uso do tabaco, relacionada à diminuição da síntese de proteínas musculares e aumento da expressão de genes associados à inibição do crescimento e catabolismo muscular (LEE *et al*, 2007; BAUMGARTNER *et al*, 1998, PETERSEN *et al*, 2007; VANNI *et al*, 2009). Entretanto, o mecanismo pelo qual estas alterações acontecem não está bem caracterizado, mas podem estar envolvidas com o aumento dos genes de enzimas que degradam proteínas e com a diminuição de síntese de proteínas (PETERSEN *et al*, 2007). Estudos com mulheres pós-menopausa mostraram que a abstinência ao cigarro aumenta a massa magra quando comparado com mulheres ainda fumantes, mostrando que é esperado o ganho muscular com a cessação do tabagismo, no entanto, para esses dados existe ainda a variável relacionada à deficiência de esteróides sexuais femininos (KLEPPINGER *et al*, 2010). Contudo, não é esperado que os valores encontrados sejam maiores que aqueles evidenciados em indivíduos que nunca fumaram.

Em relação à integridade óssea, foi surpreendente verificar em fêmeas e machos, que nem a exposição à fumaça e nem a dieta prejudicaram a estrutura óssea. Nas fêmeas, a exposição à fumaça determinou um mecanismo compensatório para a manutenção da integridade óssea, com a diminuição da área óssea total, aumentando sua densidade. A comparação entre os dois grupos expostos à fumaça, sugere que a dieta hiperlipídica reforçou este mecanismo, pois, o grupo F19S teve a menor área óssea total e a maior densidade mineral dentre os grupos. Nos machos, os maiores índices de densidade mineral óssea foram alcançados pelo maior conteúdo mineral ósseo, em especial no grupo 7S, sugerindo que a dieta balanceada contribui para a manutenção da estrutura óssea. Após período de abstinência, o efeito da exposição à fumaça freando o crescimento ósseo e o ganho de conteúdo mineral ficou mais evidente e manteve a densidade mineral óssea, tornando-a semelhante a dos grupos controle. Portanto, parece que a quantidade de lipídios ofertada na dieta em período de abstinência não exerce mais influência sobre a integridade óssea e que a adaptação imposta pela exposição à fumaça não desaparece ou é revertida com a abstinência. Cabe comentar que, o período de abstinência mostrou que a ingestão de dieta normolipídica manteve os valores de CMO semelhante ao encontrado após exposição, apesar do desenvolvimento do animal, indicado pela maior área óssea aos 80 dias. Assim, é possível que, em organismos jovens alimentados com dieta normolipídica, a exposição à fumaça traga consequências mais tardias para o osso. Os resultados observados diferem de relatos da literatura, que sugerem que o tabagismo possui efeito deletério sobre a massa óssea em jovens fumantes, inclusive com redução de DMO, em ambos os sexos (SUPERVIA *et al*, 2006). Além disso, para organismos

adultos, foi descrito que o cigarro possui efeitos tóxicos ósseos e determinantes na osteoporose, promove diminuição de absorção de cálcio intestinal, alteração no suprimento sanguíneo, alteração no metabolismo da vitamina D e inibição enzimática do metabolismo androgênico com subsequente diminuição dos níveis locais de estrogênio no osso masculino (KRALL *et al*, 1999; RAPURI *et al*, 2000; BROT *et al*, 1999, BARBIERI *et al*, 1987). O tabagismo é conhecido por desempenhar efeito anti-esteroidogênico, aumentando o metabolismo de estrógenos no fígado e reduzindo sua concentração plasmática. Por possuir um efeito ósseo anti-reabsortivo, a deficiência de estrogênio está associada ao desenvolvimento de osteoporose. Entretanto, estes efeitos são observados em longo prazo e, principalmente, em mulheres em período pós-menopausa (RIGGS & MELTON, 1997; BARON *et al*, 1990).

Quanto aos indicadores lipídicos e glicídicos plasmáticos, um incidente técnico impossibilitou a realização das análises de animais controles, em ambos os períodos experimentais. Assim, as comparações só puderam ser realizadas em relação aos períodos de exposição e abstinência, sem comparação com os animais controles, não expostos. Nas fêmeas, nem dieta, exposição ou abstinência de cigarro influenciaram o conteúdo plasmático de triglicerídeos e colesterol. Nos machos, não houve alteração de triglicerídeos, no entanto, a abstinência associada à dieta normolipídica, ABS7S, levou à redução significativa de colesterol. Costa *et al* (2009), utilizando as mesmas dietas em ratos Wistar machos até 60 dias de vida, não verificaram alterações nas concentrações de triglicerídeos e colesterol. Por isso, a redução de colesterol, aqui observada não era esperada. No entanto, deve-se levar em conta a presença do fumo. Sabe-se que o tabagismo está associado ao aumento dos níveis de lipídios circulantes em humanos e em animais, independentemente da dieta (ERHARDT, 2009; CRAIG *et al*, 1989). E, apesar dos mecanismos não serem conhecidos, o perfil de tabagistas é caracterizado pelo aumento de colesterol total, triglicerídeos, LDL-c e diminuição de HDL-c. Acredita-se que, possivelmente, a nicotina estimule a secreção de catecolaminas, cortisol e hormônio do crescimento, aumentando a concentração de ácidos graxos livres, que estimulam a secreção hepática de LDL e triglicerídeos. Assim sendo, a abstinência ao cigarro reverte estes efeitos, diminuindo o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (MAEDA *et al*, 2003; TAKATA *et al*, 2014). Portanto, podemos sugerir que, em camundongos machosmas, não em fêmeas, a abstinência ao cigarro após exposição durante a adolescência, reduz a concentração de colesterol. Pode-se sugerir que a regulação estrogênica presente nesta fase da vida, seja o fator que contribui para a manutenção das concentrações de triglicerídeos e colesterol, mesmo em presença de componentes da fumaça de cigarro. Por outro lado, a

combinação dieta hiperlipídica e exposição à fumaça em fêmeas e machos se mostrou uma combinação extramente prejudicial ao metabolismo da glicose.

Nas fêmeas F19S, foram evidenciados maiores índices de glicemia, resistência à insulina e menor índice de atividade de célula β pancreática em comparação ao grupo F7S, sugerindo um efeito prejudicial e potencializador da dieta sobre o metabolismo glicídico. Comparando-se o efeito da fumaça de cigarro associada a dieta normolipídica, nota-se que a abstinência diminui a glicemia e aumenta a insulinemia, tendendo a menores índices de resistência a insulina. Isso pode indicar que no período de exposição na adolescência, uma alimentação balanceada permite melhor perfil glicêmico após abstinência. Por outro lado, quando a abstinência é acompanhada por alimentação com dieta hiperlipídica, há diminuição da glicemia, aumento da insulinemia e da atividade da célula β , e manutenção do índice de resistência a insulina, mostrando que apesar da ação do fumo não estar mais presente, o efeito deletério da dieta se mantém, determinando um perfil prejudicial ao metabolismo glicídico e estabelecido pelo maior resistência a insulina, comparado ao grupo ABS7S. Já nos machos, a associação dieta hiperlipídica com a exposição também refletiu num efeito prejudicial e potencializador da dieta sobre o perfil glicídico. Para exposição à fumaça e abstinência com dieta normolipídica, não há efeito de melhora do perfil, no entanto, pode-se inferir uma melhora do perfil na ausência de fumaça, pela tendência a melhores índices de glicemia, insulinemia, HOMA- β e HOMA-IR. Já a abstinência, para animais alimentados com dieta hiperlipídica, diminuiu a glicemia e melhorou o índice de resistência à insulina, no entanto esses indicadores ainda foram maiores do que o verificado nos animais abstinentes alimentados com dieta normolipídica.

Portanto, em camundongos púberes, a alimentação hiperlipídica e a exposição à fumaça de cigarros causam danos metabólicos que parecem ser irreversíveis para o adulto jovem e, que são mais pronunciados nas fêmeas. Somadas essas alterações ao maior acúmulo de gordura visceral e subcutânea pode-se esperar que maiores danos metabólicos comecem a se expressar contribuindo para o desenvolvimento da síndrome metabólica em idade mais precoce, diminuindo a qualidade de vida do adulto. A literatura mostra que o tabagismo é um fator de risco independente para o desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2, principalmente, pelo desenvolvimento de resistência à insulina, sendo melhorado após a cessação do hábito tabagista (PERRY *et al*, 1995; ATTVALL *et al*, 1993, HENKIN *et al*, 1999). A menor sensibilidade a insulina pode ser explicada pela toxicidade provocada pelo tabaco, principalmente via nicotina e monóxido de carbono, que se difunde pela corrente sanguínea e pode interferir com o funcionamento normal das células β , o que por sua vez

pode desencadear interrupções no funcionamento normal dos transportadores de glicose no nível celular. Além disso, a redução no fluxo sanguíneo pode trazer alterações vasculares e perda da massa muscular, diminuindo a absorção de glicose via músculos esqueléticos (FACCHINI *et al*, 1992; WILLI *et al*, 2007; FAGARD & NILSSON, 2009). Além disso,

CHEN *et al* (2007) sugerem que esta redução da sensibilidade a insulina pode estar relacionada também ao aumento da expressão de TNF- α e IL-6 em animais expostos à fumaça de cigarro e alimentados com dieta hiperlipídica em longo prazo. Nossos resultados demonstram, portanto, que os efeitos da abstinência à fumaça de cigarro em camundongos adultos jovens possui relação com a dieta consumida.

CONCLUSÃO

Ao desmame, camundongos machos e fêmeas são semelhantes quanto à massa corporal. A introdução de dietas manufaturadas, nesses organismos jovens, não altera o crescimento, no entanto, o ganho na composição corporal de machos é superior ao de fêmeas.

A exposição à fumaça de cigarro não altera o consumo nas fêmeas e diminui nos machos e, o ganho de massa, em ambos, está relacionado ao tipo de dieta. A associação com a dieta, não refletiu na adiposidade, gerou menor área óssea e resistência a insulina nas fêmeas. Enquanto nos machos, a composição corporal foi afetada com maiores adiposidade, massa magra e densidade mineral óssea e resistência a insulina.

A abstinência à fumaça de cigarro associada à ingestão de dieta hiperlipídica alterou o padrão de consumo alimentar, aumentando nas fêmeas e reduzindo nos machos, que surpreendentemente, refletiu no maior ganho de massa corporal nos machos do que nas fêmeas. A composição corporal mostrou padrão semelhante nos machos e fêmeas com menores percentuais de massa gorda e maior massa magra. Enquanto, o metabolismo glicídico permaneceu negativamente influenciado pela associação dieta hiperlipídica – fumaça que embora tenha melhorado a glicemia, ainda manteve maior índice de resistência à insulina.

Portanto, considerando as especificidades determinadas pelo sexo e pela idade, a interação da dieta hiperlipídica com a exposição à fumaça prejudica a composição corporal e o metabolismo glicídico e, a abstinência não consegue melhorar as alterações metabólicas estabelecidas durante exposição, além de induzir maior ganho de massa em machos do que em fêmeas, preconizando que a manutenção do hábito alimentar não saudável pode desencadear distúrbios metabólicos independente do perfil corporal.

REFERÊNCIAS

- ABIOVE. Associação Brasileira das Indústrias de Óleos vegetais. Estatísticas mensais do complexo da soja: Balanço da oferta/ demanda. Disponível em <<http://www.abiove.org.br>>. Acesso em 23 de março de 2017.
- ABREU-VILLAÇA Y; FILGUEIRAS CC; GUTHIERREZ M; MEDEIROS AH; MATTOS MA; PEREIRA MDOS S; MANHÃES AC; KUBRUSLY RC. Exposure to tobacco smoke containing either high or low levels of nicotine during adolescence: differential effects on choline uptake in the cerebral cortex and hippocampus. *Nicotine Tob Res.* 2010; 12(7):776-780.
- ABREU-VILLAÇA Y; DE CARVALHO GRAÇA AC; RIBEIRO-CARVALHO A; NAIFF VDEF; MANHÃES AC; FILGUEIRAS CC. Combined exposure to tobacco smoke and ethanol in adolescent mice elicits memory and learning deficits both during exposure and withdrawal. *Nicotine Tob Res.* 2013; 15(7): 1211-1221.
- ADRIANI W; MACRÌ S; PACIFICI R; LAVIOLA G. Peculiar vulnerability to nicotine oral self-administration in mice during early adolescence. *Neuropsychopharmacol.* 2002; 27 (2) 212–224.
- ADRIANI W; DEROCHE-GAMONET V; LE MOAL M; LAVIOLA G; PIAZZA PV. Pre-exposure during or following adolescence differently affects nicotine-rewarding properties in adult rats. *Psychopharmacology.* 2006; 184: 382–390.
- ÁGUILA MB; LOUREIRO CC; PINHEIRO AR; MANDARIM-DE-LACERDA CA. Metabolismo Lipídico de Ratos Alimentados com Diferentes Tipos de Lipídios. *Arq Bras Cardiol.* 2002; 78: 25-31.
- AUDRAIN-MCGOVERN J; BENOWITZ NL. Cigarette smoking, nicotine, and body weight. *Clin Pharmacol Ther.* 2011; 90: 164–168.
- ATTVALL S; FOWELIN J; LAGER I; VON SCHENCK H; SMITH U. Smoking induces insulin resistance--a potential link with the insulin resistance syndrome. *J Intern Med.* 1993; 233(4): 327-332.
- AZEREDO CM; DE REZENDE LF; CANELLA DS; MOREIRA CLARO R; DE CASTROIR; LUIZ ODO C; LEVY RB. Dietary intake of Brazilian adolescents. *Public Health Nutr.* 2015; 18(7): 1215-1224.
- BAMIA C; TRICHOPOULOU A; LENAS D; TRICHOPOULOS D (2004) Tobacco smoking in relation to body fat mass and distribution in a general population sample. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004; 28: 1091–1096.
- BARANOWSKI T; MENDLEIN J; RESNICOW K; FRANK E; CULLEN KW; BARANOWSKI J. Physical activity and nutrition in children and youth: a view of the overweight of obesity prevention. *Preventive Med.* 2000; 31(2): 1-10.

- BARBIERI RL; YORK CM; CHERRY ML; RYAN KJ. The effects of nicotine, cotinine and anabasine on rat adrenal 11 β -hydroxylase and 21 hydroxylase. *J Steroid Biochem.* 1987; 24: 1-4.
- BARON JA; LA VECCHIA C; LEVI F. The antiestrogenic effect of cigarette smoking in women. *Am J Obstet Gynecol.* 1990; 162(2): 502-514.
- BARRETO SM; GIATTI L; OLIVEIRA-CAMPOS M; ANDREAZZI MA; MALTA DC. Experimentation and use of cigarette and other tobacco products among adolescents in the Brazilian state capitals (PeNSE 2012). *Rev Bras Epidemiol.* 2014; 17(1): 62–76.
- BARRETT-CONNOR E; KHAW KT. Cigarette smoking and increased central adiposity. *Ann Intern Med.* 1989; 111: 783–787.
- BATISTA SP. Inhalation studies of toxicity of tobacco smoke. In: GORI GB; BOCK FG. *Banbury Report 3-A safe cigarette?* Cold Spring Harbor, New York, Cold Spring Harbor Laboratory. 1980. 51-62.
- BAUMGARTNER RN; KOEHLER KM; GALLAGHER D; ROMERO L; HEYMSFIELD SB; ROSS RR; GARRY PJ; LINDEMAN RD. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol.* 1998; 147: 755–763.
- BELLUZZI JD, LEE AG, OLIFF HS, LESLIE FM. Age-dependent effects of nicotine on locomotor activity and conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology.* 2004; 174 (3): 389-395.
- BENOWITZ NL. Nicotine addiction. *N Engl J Med.* 2010; 362: 2295–2303.
- BERLIN I. Smoking-induced metabolic disorders: a review. *Diabetes Metab.* 2008; 34:307–314.
- BISHOP C; PARKER GC; COSCINA DV. Systemic nicotine alters whole-body fat utilization in female rats. *Physiol Behav.* 2004; 80: 563 – 567.
- BJARNASON NH; NIELSEN TF; JØRGENSEN HL; CHRISTIANSEN C. The influence of smoking on bone loss and response to nasal estradiol. *Climacteric.* 2009; 12: 59–65.
- BOSQUEIRO JR. Digestão e absorção. In: CURI-PROCOPIO. *Fisiologia Básica.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009; 651-653.
- BRAND JS; CHAN MF; DOWSETT M; FOLKERT E; WAREHAM NJ; LUBEN RN; VAN DER SCHOUW YT; KHAW KT. Cigarette smoking and endogenous sex hormones in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(10): 3184-3192.
- BRASIL. Lei Federal nº 9294 de 15 de julho de 1996. Dispõe sobre as restrições ao uso e à propaganda de produtos fumíferos, bebidas alcoólicas, medicamentos, terapias e defensivos agrícolas, nos termos do § 4º do art.220 da Constituição Federal. *Diário Oficial.* Brasília, 1996.

BRASIL. Lei Federal nº 12546 de 14 de dezembro de 2011. Art. 49. Altera os Arts. 2º e 3º da Lei n. 9.294, de 15 de julho de 1996. Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigitel Brasil 2013: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília, 2014b. 120 p.

BRASIL. Secretaria de Atenção à Saúde. Guia alimentar para a população brasileira. 2. ed. Brasília, DF, 2014a. 152 p.

BRIELMAIER JM; MCDONALD CG; SMITH RF. Immediate and long-term behavioral effects of a single nicotine injection in adolescent and adult rats. *Neurotoxicol Teratol.* 2007; 29(1): 74-80.

BROT C; JORGENSEN NR; SORENSEN OH. The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur J Clin Nutr.* 1999; 53: 920-926.

BROULIK PD; JARÁB J. The effect of chronic nicotine administration on bone mineral content in mice. *Horm Metab Res.* 1993; 25(4): 219–221.

BRUIJNZEEL AW. Tobacco addiction and the dysregulation of brain stress systems. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012; 36 (5):1418-1441.

BURDGE GC. Polyunsaturated fatty acid intakes and α -linolenic acid metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2011; 93(3): 665-666.

CAAN B; COATES A; SCHAEGER C; FINKLER L; STERNFELD B; CORBETT K. Women gain weight one year after smoking cessation while dietary intake temporarily increases. *J Am Diet Assoc.* 1996; 96(11): 1150 –1155.

CANOY D; WAREHAM N; LUBEN R; WELCH A; BINGHAM S; DAY N; KHAW KT. Cigarette smoking and fat distribution in 21,828 British men and women: a population-based study. *Obes Res.* 2005; 13(8): 1466-75.

CARNEY R M; GOLDBERG AP. (1984) Weight gain after cessation of cigarette smoking. A possible role for adipose-tissue lipoprotein lipase. *N Engl J Med.* 1984; 310: 614–616.

CARPINELLI AR . Pâncreas Endócrino. In: CURI-PROCOPIO. *Fisiologia Básica.* 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009; 765-777.

CARVALHEIRA JBC; SAAD MJA. Doenças associadas à resistência à insulina/hiperinsulinemia, não incluídas na síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006; 50(2): 360-367.

CAVALCANTE, TM. O controle do tabagismo no Brasil: avanços e desafios. *Rev Psiqu Clin.* 2005; 32(5): 283-300.

CELLA RCF, REGITANO-D'ARCE MAB; SPOTO MHF. Comportamento do óleo de soja refinado utilizado em fritura por imersão com alimentos de origem vegetal. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2002; 22(2): 111-116.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Current tobacco use among middle and high school students—United States, 2011. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2012;61:581–585.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing tobacco use among young people: a report of the Surgeon General. United States, Atlanta, GA; 1994; 43:4.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Tobacco product use among middle and high school students—United States, 2011 and 2012. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2013; 62: 893–897.

CESARETTI MLR; JUNIOR OK. Modelos Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições Aprendidas. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006; 50(2):190-197.

CÉSAR-NETO JB; DUARTE PM; SALLUM EA; BARBIERI D; MORENO H JR; NOCITI FH JR. A comparative study on the effect of nicotine administration and cigarette smoke inhalation on bone healing around titanium implants. *J Periodontol*. 2003;74 (10): 1454–1459.

CHEN H; HANSEN MJ; JONES JE; VLAHOS R; ANDERSON GP; MORRIS MJ. Detrimental metabolic effects of combining long-term cigarette smoke exposure and high-fat diet in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007; 293(6): 1564-1571.

CHEN H; SAAD S; SANDOW SL; BERTRAND PP. Cigarette smoking and brain regulation of energy homeostasis. *Front Pharmacol*. 2012; 3: 1-8.

CHIOLERO A; FAEH D; PACCAUD F; CORNUZ J. Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. *J Am J Clin Nutr*. 2008; 87(4):801-809.

CONSTANCEWIENER R; TRICKETT SHOCKEY AK; MORGAN SK. Adolescent Light Cigarette Smoking Patterns and Adult Cigarette Smoking. *Adv Epidemiol*. 2016; 2016.

COSTA CA; CARLOS AS; SANTOS AS; MOURA EG; NASCIMENTO-SABA CC. High-fat diets containing soybean or canola oil affect differently pancreas function of young male rats. *Horm Metab Res*. 2013; 45(9): 652-624.

COSTA CAS; ALVES EG; GONZALEZ GPL; BARBOSA TB; CARLOS AS; LIMA VD; NASCIMENTO R; MOURA EG; NASCIMENTO-SABA CCA. Evaluation of body development, fat mass and lipid profile in rats fed with high-PUFA and -MUFA diets, after neonatal malnutrition. *Br J Nutr*. 2009; 101(11): 1639-1644.

COSTA CAS; SANTANA AC; SANTOS AS; MONTEIRO AMV; MOURA EG; NASCIMENTO-SABA CCA. Abdominal adiposity, insulin and bone quality in young male rats fed a high-fat diet containing soybean or canola oil. *Clinics*. 2011; 66 (10):1-6.

COSTA CAS; SANTOS AS; CARLOS AS; GONZALEZ GPL; GASPAR-REIS RP; CARNEIRO C; ALVES SS; ALBUQUERQUE KP; SILVA PCA; RIBEIRO DC; BOAVENTURA GT; MOURA EG; NASCIMENTO-SABA CCA. Impact of a high-fat diet containing canola or soybean oil on body development and bone parameters in adult male rats. *Nutr Hosp*. 2015; 31(5): 2147-2153.

CRAIG WY; PALOMAKI GE; HADDOW JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: an analysis of published data. *BMJ*. 1989;298(6676):784-788.

CUMMINGS SR; NEVITT MC; BROWNER WS; STONE K; FOX KM; ENSRUD KE; CAULEY J; BLACK D; VOGT TM. Risk factors for hip fracture in white women. study of osteoporotic fractures research group. *N Engl J Med*. 1995; 332(12): 767-773.

DANI JA; DE BIASI M. Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacol Biochem Behav*. 2001; 70: 439-446.

DIETZ, WH. Prevalence of obesity in children. In: BRAY G, BOUCHARD C, JAMES WPT. *Handbook of obesity*. New York: Marcel Decker. 1998: 93-102.

DIMAI HP; CHANDRAN M. FRAX(®)Position Development Conference Members. Official Positions for FRAX® clinical regarding smoking from Joint Official Positions Development Conference of the International Society for Clinical Densitometry and International Osteoporosis Foundation on FRAX®. *J Clin Densitom*. 2011; 14(3): 190-193.

DINIZ YS; BURNEIKO RM; SEIVA FRF; ALMEIDA FQA; GALHARDI CM; NOVELLI FILHO JLVB; MANI F; NOVELLI ELB. Diet compounds, glycemic index and obesity-related cardiac effects. *Intern Journ Cardiol*. 2008; 124:92-99.

DOOLITTLE DJ; WINEGAR R; LEE CK; CALDWELL WS; HAYES AW; DE BETHIZY JD. The genotoxic potential of nicotine and its major metabolites. *Mutat Res*. 1995; 344: 95-102.

DOUBENI CA; LI W; FOUAYZI H; DIFRANZA JR. Perceived accessibility as a predictor of youth smoking. *Ann Fam Med*. 2008; 6:323-330.

DUARTE ACG; FONSECA DF; MANZONI MS; SOAVE CF; SENE-FIORESE M; DÂMASO AR; CHEIK NC. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. *Rev Nutr*. 2006; 19(3): 341-348.

ENES CC; SLATER B. Dietary intake of adolescents compared with the Brazilian Food Guide and their differences according to anthropometric data and physical activity. *Rev bras epidemiol*. 2015; 18 (4): 798-808.

ENES CC; SLATER B. Obesidade na adolescência e seus principais fatores determinantes. *Rev Bras Epidemiol*. 2010; 13(1): 163-171.

ERHARDT L. Cigarette smoking: an undertreated risk factor for cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2009; 205(1):23-32.

ESTADELLA D; OYAMA LM; DÂMASO AR; RIBEIRO EB; NASCIMENTO CMOD. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*. 2004; 20(2):218-224.

FACCHINI FS; HOLLENBECK CB; JEPPESEN J; CHEN YD; REAVEN GM. Insulin resistance and cigarette smoking. *Lancet*. 1992; 339: 1128-1130.

FAGARD RH; NILSSON PM. Smoking and diabetes-the double health hazard! Prim Care Diabetes. 2009;3(4):205-209.

FAO/OPAS. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e Organização Pan-Americana da Saúde. Panorama da Segurança Alimentar e Nutricional na América Latina e Caribe. Santiago, 2017; 163p.

FARADAY MM; ELLIOTT BM; GRUNBERG NE. Adult vs. adolescent rats differ in biobehavioral responses to chronic nicotine administration. Pharmacol Biochem Behav. 2001; 70(4): 475-489.

FELLMANN, L; NASCIMENTO, AR; TIBIRIÇA, E; BOUSQUET, P. Murine models for pharmacological studies of the metabolic syndrome. Pharmacol Ther. 2013;137(3):331-40.

FIGUEIREDO VC; SZKLO AS; COSTA LC; KUSCHNIR MC; SILVA TL; BLOCH KV; SZKLO M. ERICA: smoking prevalence in Brazilian adolescents. Rev Saude Publica. 2016; 50(1): 1-12.

FLATT JP; TREMBLAY A. Energy expenditure and substrate oxidation. In: BRAY GA, BOUCHARD C; JAMES WPT. Handbook of obesity. New York: Marcel Decker, 1998: 513-537.

FREEDMAN DS; SERDULA MK; SRINIVASAN SR; BERENSON GS. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. Am J Clin Nutr. 1999; 69(2): 308-317.

FRENCH SA; PERRY CL; LEON GR; FULKERSON JA. Weight concerns, dieting behavior, and smoking initiation among adolescents. A prospective study. Am J Public Health. 1994; 84: 1818 –1820.

FULKERSON JA; FRENCH SA. Cigarette smoking for weight loss or control among adolescents: gender and racial/ethnic differences. J Adolesc Health. 2003; 32: 306–313.

FUNG YK; MENDLIK MG; HAVEN MC; AKHTER MP; KIMMEL DB. Short-term effects of nicotine on bone and calciotropic hormones in adult female rats. Pharmacol Toxicol. 1998; 82(5): 243–249.

FUXE K; ANDERSSON K; ENEROTH P; HÄRFSTRAND A; AGNATI LF. Neuroendocrine actions of nicotine and of exposure to cigarette smoke: medical implications. Psychoneuroendocrinology. 1989; 14(1-2): 19-41.

GALLOU-KABANI C; VIGÉ A; GROSS MS; RABÈS JP; BOILEAU C; LARUE-ACHAGIOTIS C; TOMÉ D; JAIS JP; JUNIEN C. C57BL/6J and A/J Mice Fed a High-Fat Diet Delineate Components of Metabolic Syndrome. Obesity. 2007; 15(8): 1996-2005.

GAO SG; LI KH; XU M; JIANG W; SHEN H; LUO W; XU WS; TIAN J; LEI GH. Bone turnover in passive smoking female rat: relationships to change in bone mineral density. BMC Musculoskelet Disord. 2011; 12: 131.

GARRETT BE; ROSE CA, HENNINGFIELD, JE. Tobacco addiction and pharmacological interventions. *Expert Opin Pharmacother*. 2001; 2 (10): 1545-1555.

GLICKMAN SG; MARN CS; SUPIANO MA; DENGEL DR. Validity and reliability of dual-energy x-ray absorptiometry for the assessment of abdominal adiposity. *J Appl Physiol*. 2004; 97: 509-514.

GRUNBERG NE; WINDERS SE; POPP KA. Sex differences in nicotine's effects on consummatory behavior and body weights in rats. *Psychopharmacology*. 1987; 91: 221-225.

HANSEN MJ; CHEN H; JONES JE; LANGENBACH SY; VLAHOS R; GUALANO RC; MORRIS MJ; ANDERSON GP. The lung inflammation and skeletal muscle wasting induced by subchronic cigarette smoke exposure are not altered by a high-fat diet in mice. *PLoS One*. 2013; 8(11): 1-9.

HARRELL, PT; SIMMONS VN; CORREA JB; PADHYA TA; BRANDON TH. Electronic Nicotine Delivery Systems ("E-Cigarettes"): Review of Safety and Smoking Cessation Efficacy. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014; 151(3): 381-393.

HENKIN L; ZACCARO D; HAFFNER S, KARTER A; REWERS M; SHOLINSKY P; WAGENKNECHT L. Cigarette smoking, environmental tobacco smoke exposure and insulin sensitivity: the insulin resistance atherosclerosis study. *Ann Epidemiol*. 1999; 9: 290–296.

HEROLD PM; KINSELLA JE. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: a comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am J Clin Nutr*. 1986; 43(4): 566-598.

HEYNE A; KIESSELBACH C; SAHÚN I; MCDONALD J; GAIFFI M; DIERSSEN M; WOLFFGRAMM J. An animal model of compulsive food-taking behaviour. *Addict Biol*. 2009; 14(4): 373-383.

HOLLINGER JO; SCHMITT JM; HWANG K; SOLEYMANI P; BUCK D. Impact of nicotine on bone healing. *J Biomed Mater Res*. 1999; 45(4): 294–301.

HOLMAN RT. How essential are essential fatty acids? *Arch Latinoam Nutr*. 1979; 29(1): 11-38.

HUKKANEN J; JACOB PRD, BENOWITZ NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev*. 2005; 57: 79–115.

HUR YN; HONG GH; CHOI SH; SHIN KH; CHUN BG. High fat diet altered the mechanism of energy homeostasis induced by nicotine and withdrawal in C57BL/6 mice. *Mol Cells*. 2010; 30: 219–226.

Iavicoli I; CARELLI G; STANEK EJ 3RD; CASTELLINO N; CALABRESE EJ. Effects of low doses of dietary lead on puberty onset in female mice. *Reprod Toxicol*. 2004;19(1):35-41.

INOUE K; TAKESHIMA F; KADOTA K; YODA A; TATSUTA Y; NAGAURA Y; YOSHIOKA S; NAKAMICHI S; NAKAO K; OZONO Y. Early effects of smoking cessation

and weight gain on plasma adiponectin levels and insulin resistance. *Intern Med.* 2011; 50: 707–712.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saúde 2013: Percepção do Estado de Saúde, Estilos de vida e Doenças Crônicas. Rio de Janeiro: IBGE; 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística. Pesquisa Nacional de Saúde do escolar 2015 (PeNSE 2015). Rio de Janeiro : IBGE, 2016; 132p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 – POF. Rio de Janeiro, 2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares, 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. CONTAPP. Falando sobre o tabagismo. 3ª Ed. Rio de Janeiro: INCA, 1998.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). Pesquisa especial de tabagismo – PETab: Relatório Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2011; 199 p.

IWANIEC UT; FUNG YK; CULLEN DM; AKHTER MP; HAVEN MC; SCHMID M. Effects of nicotine on bone and calciotropic hormones in growing female rats. *Calcif Tissue Int.* 2000; 67(1): 68–74.

JORDE R; SUNDSFJORD J. Serum TSH levels in smokers and non-smokers. The 5th Tromsø study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2006; 114(7): 343-347.

KANIS JA; JOHNNELL O; ODEN A; JOHANSSON H; DE LAET C; EISMAN JA; FUJIWARA S; KROGER H; MCCLOSKEY EV; MELLSTROM D; MELTON LJ; POLS H; REEVE J; SILMAN A; TENENHOUSE A. Smoking and fracture risk: A meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2005; 16(2): 155-162.

KANIS JA; MCCLOSKEY EV; JOHANSSON H; STROM O; BORGSTROM F; ODEN A; NATIONAL OSTEOPOROSIS GUIDELINE GROUP. Case finding for the management of osteoporosis with FRAX–assessment and intervention thresholds for the UK. *Osteoporos Int.* 2008; 19(10): 1395–1408.

KAWAMOTO R; TABARA Y; KOHARA K; MIKI T; ABE M; KUSUNOKI T; KATOH T; OHTSUKA N. Serum high molecular weight adiponectin is associated with mild renal dysfunction in Japanese adults. *J Atheroscler Thromb.* 2010; 17: 1141–1148.

KAY J, TASMAN A. Transtornos por uso de nicotina. IN: . *Psiquiatria: Ciência comportamental e estudos clínicos.* Editora Manole Ltda, 2002; cap.21: 238-242.

KHURANA M; SHARMA D; KHANDELWAL PD. Lipid profile in smokers and tobacco chewers a comparative study. *J Assoc. Physicians India*. 2000; 48: 895-897.

KIM JH; SHIM KW; YOON YS; LEE SY; KIM SS; OH SW. Cigarette smoking increases abdominal and visceral obesity but not overall fatness: an observational study. *PLoS One*. 2012;7(9): 1-5.

KLEPPINGER A; LITT MD; KENNY AM; ONCKEN CA. Effects of smoking cessation on body composition in postmenopausal women. *J Womens Health (Larchmt)*. 2010;19(9):1651-1657.

KLESGES RC; BROWN K; PASCALE RW; MURPHY M; WILLIAMS E; CIGRANG JA. Factors associated with participation, attrition, and outcome in a smoking cessation program at the workplace. *Health Psychol*. 1988; 7: 575-589.

KLESGES RC; WINDERS SE; MEYERS AW; ECK LH; WARD KD; HULTQUIST CM; RAY JW; SHADISH WR. How much weight gain occurs following smoking cessation? A comparison of weight gain using both continuous and point prevalence abstinence. *J Consult Clin Psychol*. 1997; 65:286-291.

KNORST MM; BENEDETTO IG; HOFFMEISTER MC; GAZZANA MB. Cigarro eletrônico: o novo cigarro do século 21?. *J Bras Pneumol*. 2014; 40(5): 564-573.

KOTA D; ROBINSON SE; DAMAJ IM. Enhanced nicotine reward in adulthood after exposure to nicotine during early adolescence in mice. *Biochem Pharmacol*. 2009; 78: 873-879.

KRALL EA; DAWSON-HUGHES B. Smoking increases bone loss and decreases intestinal calcium absorption. *J Bone Miner Res*. 1999; 14: 215-220.

LANDS, B. Consequences of essential fatty acids. *Nutrients*. 2012; 4(9): 1338-1357.

LARSSON K; QUINN PJ. Physical Properties: Structural and Physical Characteristics. In: GUNSTONE FD; HARWOOD JL; PADLEY FD. *The Lipid Handbook*. London: Chapman and Hall; 1994: 422-439.

LAW MR; HACKSHAW AK. A meta-analysis of cigarette smoking, bone mineral density and risk of hip fracture: Recognition of a major effect. *BMJ*. 1997; 315(7112): 841-846.

LEAL GVS; PHILIPPI ST; MATSUDO SMM; TOASSA EC. Consumo alimentar e padrão de refeições de adolescentes. *Rev bras epidemiol*. 2010;13(3): 457-467.

LEE JS; AUYEUNG TW; KWOK T; LAU EM; LEUNG PC; WOO J. Associated factors and health impact of sarcopenia in older Chinese men and women: A cross-sectional study. *Gerontology*. 2007; 53: 404-410.

LEVIN ED; REZVANI AH; MONTOYA D; ROSE JE; SWARTZWELDER HS. Adolescent-onset nicotine self-administration modeled in female rats. *Psychopharmacology*. 2003; 169 (2): 141-149.

LEVY-COSTA RB; SICHIERI R; PONTES NS; MONTEIRO, CA. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: Distribuição e evolução (1974-2003). *Rev Saud Pub.* 2005; 39(4):530-540.

LI MD; BURMEISTER M. New insights into genetics of addiction. *Nat Rev Genet.* 2009; 10(4): 225-231.

LIU T; CHEN WQ; DAVID SP; TYNDALE RF; WANG H; CHEN YM; YU XQ; CHEN W; ZHOU Q; LING WH. Interaction between heavy smoking and CYP2A6 genotypes on type 2 diabetes and its possible pathways. *Eur J Endocrinol.* 2011; 165: 961–967.

LOUZADA MLC; MARTINS APB; CANELLA DS; BARALDI LG; LEVY RB; CLARO RM; MOUBARAC JC; CANNON G; MONTEIRO C. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. *Revista de Saúde Pública.*, 49, 38. Epub July 10, 2015. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2015; 49 (38): 1-11.

LUKASKI HC; HALL CB; MARCHELLO MJ; SIDERS WA. Validation of dual x-ray absorptiometry for body-composition assessment of rats exposed to dietary stressors. *Nutrition.* 2001; 17: 607-613.

MADSEN L; PETERSEN RK; KRISTIANSEN K. Regulation of adipocyte differentiation and function by polyunsaturated fatty acids. *Biochim Biophys Acta.* 2005; 1740: 266-286.

MAEDA K; NOGUCHI Y; FUKUI T. The effects of cessation from cigarette smoking on the lipid and lipoprotein profiles: a metaanalysis. *Prev Med.* 2003; 37: 283–290.

MALTA DC; ANDREAZZI MAR; OLIVEIRA-CAMPOS M; ANDRADE SCA; SÁ NNB; MOURA L; DIAS AJR; CRESPO CD; SILVA JÚNIOR JB. Tendência dos fatores de risco e proteção de doenças crônicas não transmissíveis em adolescentes, Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE 2009 e 2012). *Rev Bras Epidemiol.* 2014; 17(1): 77-91.

MANGUBAT M; LUTFY K; LEE ML; PULIDO L; STOUT D; DAVIS R; SHIN CS; SHAHBAZIAN M; SEASHOLTZ S; SINHA-HIKIM A; SINHA-HIKIM I; O'DELL LE; LYZLOV A; LIU Y; FRIEDMAN TC. Effect of nicotine on body composition in mice. *J Endocrinol.* 2012; 212: 317–326.

MARTINS APB; LEVY RB; CLARO RM; MOUBARAC JC; MONTEIRO CA. Increased contribution of ultra-processed food products in the Brazilian diet (1987-2009). *Rev Saude Publica .* 2013; 47(4): 656-65.

MATTHEWS DR; HOSKER JP; RUDENSKI AS; NAYLOR BA; TREACHER DF; TURNER RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985; 28(7): 412-419.

MCDONALD, BE. Canola Oil: Nutritional Properties, 2005. Disponível em <<http://canola.okstate.edu/canola-info/nutrition/Nutritionalprop.pdf>> Acesso em 05 jan.2017.

- MEIRELLES RHS. Tabagismo e DPOC – dependência e doença – fato consumado. *Pulmão RJ*. 2009; 1(1):13-19.
- MINEUR YS; ABIZAID A; RAO Y; SALAS R; DILEONE RJ; GÜNDISCH D; DIANO S; DE BIASI M; HORVATH TL; GAO XB; PICCIOTTO MR. Nicotine decreases food intake through activation of POMC neurons. *Science*. 2011; 332: 1330–1332.
- MONTEIRO CA; MOUBARAC JC; CANNON G; NG SW; POPKIN B. Ultra-processed products are becoming dominant in the global food system. *Obes Rev*. 2013; 14(2): 21-28.
- MONTES DE OCA M; LOEB E; TORRES SH; DE SANCTIS J; HERNÁNDEZ N; TÁLAMO C. Peripheral muscle alterations in non-COPD smokers. *Chest*. 2008;133(1):13-8.
- MOREIRA JS; SILVA LCC. Tabagismo como fator de risco. IN: SILVA, LCC. *Pneumologia: Princípios e Prática*. Artmed Editora, 2009; cap.28, 219-222.
- MOREIRA NX; CURI R; MANCINI FILHO J. Fatty acids: a review. *Nutrire*. 2002; 24: 105-123.
- NEED AG; KEMP A; GILES N; MORRIS HA; HOROWITZ M; NORDIN BE. Relationships between intestinal calcium absorption, serum vitamin D metabolites and smoking in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2002;13(1):83-88.
- NELSON DL; COX MM. Lipídios. In: *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 3 ed. Sarvier, 2002; cap.11, 280-300.
- ONAT A; OZHAN H; ESEN AM; ALBAYRAK S; KARABULUT A; CAN G; HERGENÇ G. Prospective epidemiologic evidence of a ‘protective’ effect of smoking on metabolic syndrome and diabetes among Turkish women – without associated overall health benefit. *Atherosclerosis*. 2007; 193: 380–388.
- PAIXÃO, LLO. A influência do fumo sobre a morfologia ovariana de camundongos Swiss. 2011. 67f. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do estado do Rio de Janeiro. 2011.
- PENTON RE; LESTER RAJ. Cellular events in nicotine addiction. *Semin Cell Dev Biol*. 2009; 20(4): 418-431.
- PEPINO MY; FINKBEINER S; MENNELLA JA. Similarities in food cravings and mood states between obese women and women who smoke tobacco. *Obesity*. 2009; 17: 1158–1163.
- PERICHART-PEREIRA, OM; BALAS-NAKASH, A; RODRÍGUEZ-CANO, C; MUÑOZ-MANRIQUE, A; MONGE-URREA, F; VADILLO-ORTEGA. Correlates of dietary energy sources with cardiovascular disease risk markers in Mexican school-age children. *J Am Diet Assoc*. 2010; 110:253–260.
- PERKINS KA. Effects of tobacco smoking on caloric intake. *Br J Addict*. 1992; 87: 193–205.
- PETERSEN AM; MAGKOS F; ATHERTON P; SELBY A; SMITH K; RENNIE MJ;

PEDERSEN BK; MITTENDORFER B. Smoking impairs muscle protein synthesis and increases the expression of myostatin and MAFbx in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 293: 843–848.

PLANETA CS; CRUZ FC. Bases neurofisiológicas da dependência do tabaco. *Rev Psiqu Clin.* 2005; 32(5): 251-258.

POTTER BK; PEDERSON LL; CHAN SS; AUBUT JA; KOVAL JJ. Does a relationship exist between body weight, concerns about weight, and smoking among adolescents?. An integration of the literature with an emphasis on gender. *Nicotine Tob Res.* 2004; 6: 397–425.

PROENÇA, RPC. Alimentação e globalização: algumas reflexões. *Cienc. Cult.* 2010; 62 (4): 43-47.

RAPURI PB; GALLAGHER JC; BALHORN KE; RYSCHON KKL. Smoking and bone metabolism in elderly women. *Bone.* 2000; 27: 429-436.

RASHID S; WATANABE T; LEWIS GF. Mechanisms of hdl lowering in insulin resistant, hypertriglyceridemic states: the combined effect of HDL triglyceride enrichment and elevated hepatic lipase activity. *Clin Biochem.* 2003; 36(6): 421-429.

REEVES PG. Componentes of the AIN-93 diets as improvement in the AIN-76 diet. *J Nutr.* 1997; 127: 838-841.

RIGGS BL; MELTON III LJ. The prevention and treatment of osteoporosis. *N Engl J Med* 1997; 327: 620-627.

ROLLS BJ. The relationship between dietary energy density and energy intake. *Physiol Behav.* 2009; 97(5): 609-615.

RUSSELL MA. Subjective and behavioural effects of nicotine in humans: some sources of individual variation. *Prog Brain Res.* 1989; 79: 289-302.

RYAN Y; GIBNEY MJ; FLYNN MAT. The pursuit of thinness: a study of Dublin schoolgirls aged 15 y. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998; 22: 485 – 487.

SANTOS BF. Criação e manejo de ratos. In: ANDRADE A; PINTO SC; OLIVEIRA RS. *Animais de Laboratório: criação e experimentação.* Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. cap.15: 119-122.

SANTOS KMO; AQUINO RC. Grupo de óleos e gorduras. In: PHILIPPI ST. *Pirâmide dos Alimentos: Fundamentos básicos da nutrição.* Barueri, São Paulo. Manole; 2008; 241-292.

SCHAFFER JE. Fatty acid transport: the roads taken. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 282(2): 239-246.

SEYLER LE JR; FERTIG J; POMERLEAU O; HUNT D; PARKER K. The effects of smoking on ACTH and cortisol secretion. *Life Sci.* 1984; 34(1): 57-65.

SILVA CAR. Composição química da fumaça do cigarro. In: VIEGAS CAA. *Diretrizes para*

cessação do tabagismo. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 2004; 30(2): 8-10.

SIMOPOULOS, AP. Evolutionary aspects of omega-3 fatty acids in the food supply. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1999; 60(5-6): 421-429.

SINHA AK; MISRA GC; PATEL DK. Effect of cigarette smoking on lipid profile in the young. *Journal Assoc. of Physician India*. 1995; 43: 185-188.

SINHA-HIKIM I; FRIEDMAN TC; SHIN CS; LEE D; IVEY R; SINHA-HIKIM AP. Nicotine in combination with a high-fat diet causes intramyocellular mitochondrial abnormalities in male mice. *Endocrinology*. 2014; 155(3): 865–872.

SBH. Sociedade Brasileira De Hepatologia. Doença Hepatática gordurosa não alcoólica. Rio de Janeiro. Atha, 2012; 19.

SPEAR LP. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000; 24(4): 417-463.

SUPERVÍA A; NOGUÉS X; ENJUANES A; VILA J; MELLIBOVSKY L; SERRANO S; AUBÍA J; DÍEZ-PÉREZ A. Effect of smoking and smoking cessation on bone mass, bone remodeling, vitamin D, PTH and sex hormones. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; 6(3): 234-241.

TAKATA K; IMAIZUMI S; KAWACHI E; SUEMATSU Y; SHIMIZU T; ABE S; MATSUO Y; TSUKAHARA H; NODA K; YAHIRO E; ZHANG B; UEHARA Y; MIURA S; SAKU K. Impact of cigarette smoking cessation on high-density lipoprotein functionality. *Circ J*. 2014; 78(12): 2955–2962.

TASKINEN MR. Type 2 diabetes as a lipid disorder. *Curr Mol Med*. 2005; 5(3): 297-308.

TATEBE J; MORITA T. Enhancement of TNF-alpha expression and inhibition of glucose uptake by nicotine in the presence of a free fatty acid in C2C12 skeletal myocytes. *Horm Metab Res*. 2011; 43: 11–16.

TETRI LH; BASARANOGU M; BRUNT EM; YERIAN LM; NEUSCHWANDER-TETRI BA. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008; 295(5): 987-995.

TOMEIO CA; FIELD AI; BERKEY CS; COLDITZ GA; FRAZIER LA. Weight concerns, weight control behaviors, and smoking initiation. *Pediatrics*. 1999; 104: 918-924.

TSUJIO M; MIZOROGI T; KITAMURA I; MAEDA Y; NISHIJIMA K; KUWAHARA S; OHNO T; NIIDA S; NAGAYA M; SAITO R; TANAKA S. Bone mineral analysis through dual energy x-ray absorptiometry in laboratory animals. *J Vet Med Sci*. 2009; 71: 1493-1497.

TVRZICKA E; KREMMYDA LS; STANKOVA B; ZAK A. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease--a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*.

2011; 155(2): 117-130.

VANNI H; KAZEROS A; WANG R; HARVEY BG; FERRIS B; DE BP; CAROLAN BJ; HÜBNER RH; O'CONNOR TP; CRYSTAL RG. Cigarette smoking induces overexpression of fat depleting gene AZGP1 in the human. *Chest*. 2009;135:1197–1208.

VASTOLA BJ; DOUGLAS LA; VARLINSKAYA EI; SPEAR LP. Nicotine-induced conditioned place preference in adolescent and adult rats. *Physiol Behav*. 2002; 77(1): 107-114.

VESTERGAARD P; MOSEKILDE L. Fracture risk associated with smoking: A meta-analysis. *J Intern Med*. 2003; 254(6): 572-583.

VILLALBÍ JR; SALVADOR J; CANO-SERRAL G; RODRÍGUEZ-SANZ MC; BORRELL C. Maternal smoking, social class and outcomes of pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2007; 21(5): 441-447.

WANG M; WANG JW; CAO SS; WANG HQ; HU RY. Cigarette Smoking and Electronic Cigarettes Use: A Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2016 ;13: 120: 1-16.

WARD KD; KLESGES RC; VANDER WEG MW. Cessation of smoking and body weight. In: Björntop P. *International textbook of obesity*. 2001. cap.22: 323-226.

WHITE PA; CERCATO LM, ARAÚJO JM; SOUZA LA; SOARES AF; BARBOSA AP; NETO JM; MARÇAL AC; MACHADO UF; CAMARGO EA; SANTOS MR; BRITO LC. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2013; 57(5): 339-345.

WILLI C; BODENMANN P; GHALI WA; FARIS PD; CORNUZ J. Active smoking and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2007;298(22):2654-2664.

WILLIAMS AR; WEISS NS; URE CL; BALLARD J; DALING JR. Effect of weight, smoking, and estrogen use on the risk of hip and forearm fractures in postmenopausal women. *Obstet Gynecol*. 1982; 60(6): 695-699.

WINDERS SE; GRUNBERG NE. Nicotine, tobacco smoke, and body weight: a review of the animal literature. *Ann Behav Med*. 1989; 11(4): 125-133.

WOODS SC; SERLEY RJ; RUSHING PA. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. *J Nutrition*. 2003; 4:1081-1087.

WHO. World Health Organization. *Confronting the Tobacco Epidemic in an Era of Trade Liberalization*. Geneva, 2001.

WHO. World Health Organization. *ICD-10: international statistical classification of diseases and related health problems*. 5.ed. Sao Paulo: Edusp; 1997. p.1191

WHO. World Health Organization. *Obesity and Overweight*. 2016. Disponível em

<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>> Acesso em 15 fev. 2017.

WHO. World Health Organization. Obesity – preventing and managing the global epidemic. Geneva: report of a who consultation on obesity, 1998.

WHO. World Health Organization. Report on the Global Tobacco Epidemic, 2009: Implementing smoke-free environments. Geneva: WHO, 2009.

WHO. World Health Organization. The World Health Report., Reducing Risks, Promoting Healthy Life. GENEVA, 2002; 230p.

WHO. World Health Organization. WHO report on the global tobacco epidemic, 2015: Raising taxes on tobacco. Geneva, 2015; 103p.

WHO/FAO. World Health Organization And Food And Agriculture Organization. Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. WHO Technical Report Series 916. Geneva: WHO; 2002.

WU Y; SONG P; ZHANG W; LIU J; DAI X; LIU Z; LU Q; OUYANG C; XIE Z; ZHAO Z; ZHUO X; VIOLLET B; FORETZ M; WU J; YUAN Z; ZOU MH. Activation of AMPK α 2 in adipocytes is essential for nicotine-induced insulin resistance in vivo. *Nat Med.* 2015; 21:373– 382.

YADAV, BK; BADE, AR; SINGH, J; JHA, B. Comparative study of lipid profile in smokers, tobacco chewers and diabetic patients. *Journal of Institute of Medicine.* 2005; 27: 38-41.

YILDIZ D. Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicol.* 2004; 43: 619–632.

ZAID H; ANTONESCU CN; RANDHAWA VK; KLIP A. Insulin action on glucose transporters through molecular switches, tracks and tethers. *Biochem J.* 2008; 413(2): 201-215.

ZEVENBERGEN H; DE BREE A; ZEELLENBERG M; LAITINEN K, VAN DUIJN G; FLÖTER E. Foods with a high fat quality are essential for healthy diets. *Ann Nutr Metab.* 2009;54(1): 15-24.

APÊNDICE A - Comparação entre fêmeas e machos no período do desmame à exposição à fumaça de cigarro

INDICADOR	FÊMEAS		MACHOS	
	7S	19S	7S	19S
Ingestão alimentar (g)	4,74 ± 0,42	4,14 ± 0,15	5,14 ± 0,15	4,92 ± 0,27
Massa corporal (g)	25,18 ± 0,39	25,52 ± 0,56	28,19 ± 0,87*	28,27 ± 0,71*
DXA				
Massa gorda (g)	19,6 ± 0,61	20,4 ± 0,81	25,29 ± 1,17*	25,29 ± 0,99*
Gordura do tronco (g)	18,0 ± 0,53	19,00 ± 0,83	22,86 ± 0,99*	22,86 ± 0,94*
% Gordura tronco	73,27 ± 1,3	77,76 ± 1,86	69,46 ± 2,06	68,38 ± 1,72*
% Gordura corporal	73,36 ± 1,29	77,78 ± 1,87	69,56 ± 2,01	66,94 ± 2,12*
Massa magra (g)	7,43 ± 0,30	6,00 ± 0,70	11,14 ± 0,77*	12,57 ± 0,92*
CMO total (g)	0,943 ± 0,02	1,043 ± 0,065	1,143 ± 0,048*	1,071 ± 0,047
AO total (cm ²)	14,29 ± 0,474	14,57 ± 0,611	17,29 ± 0,644*	16,71 ± 0,421*
DMO total (g/cm ²)	0,067 ± 0,002	0,070 ± 0,002	0,066 ± 0,002	0,065 ± 0,002

Legenda: Valores expressos em média ± epm. ANOVA univariada, seguida de pós teste Newman –Keuls. * p<0,05

*fêmea 7S vs macho 7S; fêmea 19S vs macho 19S.

Fonte: A autora, 2017.

APÊNDICE B - Comparação entre fêmeas e machos no período após exposição à fumaça de cigarro

INDICADORES	FÊMEAS				MACHOS			
	C7S	C19S	F7S	F19S	C7S	C19S	F7S	F19S
Ingestão acumulada (g)	17,93	21,55	19,99	21,43	26,34*	28,79*	22,88*	22,61*
Massa corporal 50d (g)	34,74 ± 0,74	40,59±1,16	34,55 ± 0,99	38,44 ± 1,94	45,38± 1,33*	48,23± 1,44*	44,52±1,43*	49,88± 1,66*
DXA								
Massa gorda (g)	15,33 ± 1,20	17,0±2,47	19,60 ± 2,04	22,60 ± 1,91	15,00 ± 1,53	14,00 ± 1,73	19,69 ± 1,17	29,50 ±2,26*
Gordura do tronco (g)	13,0 ± 1	14,67±1,76	12,0 ± 2,94	7,60 ± 0,60	7,0 ± 1,53	9,67 ± 2,41	7,83 ± 0,65	10,40 ± 1,03
% Gordura tronco	57,3 ± 2,85	61,9±3,60	46,3 ± 5,32	47,0 ± 3,94	43,07 ± 4,50	47,33 ± 7,83	41,98 ± 2,93	50,22 ± 3,09
% Gordura corporal	57,4 ± 2,80	62,03±3,58	49,02 ± 5,04	54,92 ± 3,28	46,43 ± 4,05	54,75 ± 6,55	47,43 ± 2,61	55,07 ± 2,83
Massa magra (g)	11,67 ± 2,33	10,33±0,88	15,33 ± 0,99	19,33 ± 1,48	17,33 ± 0,88	15,33 ± 2,91	23,0 ± 0,73*	23,83 ± 1,44
CMO total (g)	0,767 ± 0,033	0,767±0,067	0,933±0,061	0,085±0,034	0,700± 0,100	0,800 ±0,100	1,067±0,056	1,050± 0,081
AO total (cm ²)	13,33 ± 0,33	12,67±0,33	11,67 ± 0,56	10,0 ± 0,52	11,67 ± 1,67	12,0 ± 1,53	13,50 ± 0,92	13,33 ± 0,88
DMO total (g/cm ²)	0,059 ± 0,002	0,062±0,003	0,079±0,003	0,084±0,002	0,061±0,001	0,065 ±0,002	0,078±0,001	0,080± 0,001
TECIDOS ADIPOSOS								
Visceral (g)	2,83 ± 0,12	4,63±0,82	2,10 ± 0,20	1,90 ± 0,47	1,38 ± 0,24	2,03 ± 0,13*	1,63 ± 0,13	2,24 ± 0,04
Subcutâneo (g)	1,81 ± 0,08	2,23±0,32	0,81 ± 0,09	2,07 ± 0,15	0,84 ± 0,02*	1,74 ± 0,11	0,99 ± 0,11	2,73 ± 0,21*
INDICADORES GLICÊMICOS								
Glicose (mmol/L)	-	-	6,70 ± 0,19	8,79 ± 0,28	-	-	7,10 ± 0,23	9,78 ± 0,28*
Insulina (µUI/mL)	-	-	27,0 ± 1,64	25,65 ± 1,22	-	-	20,92 ± 2,51	35,14± 3,50*
HOMA-IR	-	-	8,08 ± 0,62	10,75 ± 0,46	-	-	7,90 ± 1,0	17,50± 2,61*
HOMA-B	-	-	177,0 ± 6,43	108,4±10,61	-	-	120,4±9,87*	100,0 ± 8,98
INDICADORES LIPÍDICOS								
Triglicerídeos (mmol/L)	-	-	1,11± 0,02	1,12 ± 0,04	-	-	1,28 ± 0,08	1,42 ± 0,14
Colesterol (mmol/L)	-	-	3,16 ± 0,45	2,77 ± 0,29	-	-	4,77 ± 0,61	4,50 ± 0,72

Legenda: Valores expressos em média ± epm. ANOVA univariada, seguida de pós teste Newman –Keuls. * p<0,05.

* fêmea C7S vs macho C7S; fêmea C19S vs macho C19S; fêmea F7S vs macho F7S; fêmea F19S vs macho F19S

Fonte: A autora, 2017.

APÊNDICE C - Comparação entre fêmeas e machos no período após abstinência

INDICADORES	FÊMEAS				MACHOS			
	C7S	C19S	ABS7S	ABS19S	C7S	C19S	ABS7S	ABS19S
Ingestão acumulada (g)	19,12	22,17	18,06	25,13	36,53*	38,78*	30,16*	33,59*
Massa corporal 80d (g)	44,68 ± 2,87	53,30 ± 5,80	39,37 ± 1,25	48,13 ± 2,17	62,85± 3,05*	65,37 ±1,11*	51,60 ±2,42*	65,54 ±1,24*
DXA								
Massa gorda (g)	31,0 ± 0,58	39,67 ± 4,91	15,0 ± 2,22	31,75 ± 3,70	41,67 ± 2,03	40,33 ± 1,67	19,25 ± 2,46	33,17 ± 2,24
Gordura do tronco (g)	17,0 ± 1,53	14,33 ± 2,33	7,17 ± 1,96	8,75 ± 0,25	19,67 ± 0,33	16,67 ± 4,41	7,50 ± 2,03	11,50 ± 1,38
% Gordura tronco	80,50 ± 0,91	72,43 ± 2,47	37,32 ± 4,11	55,78 ± 2,06	70,23± 0,43*	63,3 ± 3,31	36,80 ± 5,16	50,70 ± 1,84
% Gordura corporal	80,90 ± 0,86	77,73 ± 1,68	42,45 ± 4,04	64,58 ± 2,17	70,80± 0,36*	67,50 ±2,41*	41,10 ± 4,35	55,10 ±1,93*
Massa magra (g)	7,33 ± 0,33	11,33 ± 2,33	20,0 ± 1,0	18,83 ± 1,40	17,33± 0,66*	19,33± 2,03*	26,83± 1,58*	26,50± 1,33*
CMO total (g)	1,367 ± 0,033	1,20 ± 0,0	0,867±0,056	0,883±0,07	1,533± 0,66	1,200 ± 0,10	1,083 ±0,075	1,217 ±0,054
AO total (cm ²)	16,33 ± 0,667	13,33±0,333	10,50±0,718	10,50±0,671	18,33± 0,667	14,67± 1,667	14,0 ±1,238	15,7± 1,046*
DMO total (g/cm ²)	0,086 ± 0,001	0,089±0,002	0,086±0,002	0,084±0,002	0,082± 0,001	0,081± 0,003	0,081 ±0,003	0,082± 0,001
TECIDOS ADIPOSOS								
Visceral (g)	2,48 ± 0,21	5,68 ± 0,05	2,59 ± 0,53	9,77 ± 0,88	1,71 ± 0,07	-	1,57 ± 0,47	4,22 ± 0,91*
Subcutâneo (g)	1,47 ± 0,17	3,71 ± 0,13	1,26 ± 0,43	4,47 ± 0,34	2,49 ± 0,46*	-	0,71 ± 0,11	2,68 ± 0,07*
INDICADORES GLICÊMICOS								
Glicose (mmol/L)	-	-	5,07 ± 0,71	7,16 ± 0,26	-	-	6,28 ± 0,35	7,80 ± 0,32
Insulina (µUI/mL)	-	-	31,33 ± 1,27	32,73 ± 0,84	-	-	29,13 ± 2,43	28,09 ± 2,34
HOMA-IR	-	-	6,20 ± 0,67	10,42 ± 0,46	-	-	6,01 ± 0,99	12,06 ± 0,89
HOMA-B	-	-	152,9±13,39	173,3±11,35	-	-	160,2 ±18,77	142,7 ±15,99
INDICADORES LIPÍDICOS								
Triglicerídeos (mmol/L)	-	-	1,16 ± 0,07	1,19 ± 0,05	-	-	1,91 ± 0,09*	1,22 ± 0,09
Colesterol (mmol/L)	-	-	2,59 ± 0,09	2,62 ± 0,20	-	-	2,61 ± 0,25	3,51 ± 0,11*

Legenda: Valores expressos em média ± epm. ANOVA univariada, seguida de pós teste Newman –Keuls. * p<0,05

*fêmea C7S vs macho C7S; fêmea C19S vs macho C19S; fêmea ABS7S vs macho ABS7S; fêmea ABS19S vs macho ABS19S.

Fonte: A autora, 2017