

**MÁRCIO GONÇALVES DE SOUSA**

***EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA C  
NA REATIVIDADE VASCULAR ARTERIAL E VENOSA EM  
TABAGISTAS***

**CAMPINAS**

**2003**

**MÁRCIO GONÇALVES DE SOUSA**

***EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA C  
NA REATIVIDADE VASCULAR ARTERIAL E VENOSA EM  
TABAGISTAS***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Clínica Médica.*

***Orientador: Prof. Dr. Heitor Moreno Júnior***

**CAMPINAS**

**2003**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
UNICAMP**

So85e                      Sousa, Márcio Gonçalves de  
                                    Efeitos da administração aguda de vitamina C na reatividade  
                                    vascular arterial e venosa em tabagistas / Márcio Gonçalves de  
                                    Sousa. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

                                    Orientador : Heitor Moreno Júnior  
                                    Dissertação ( Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.  
                                    Faculdade de Ciências Médicas.

                                    1. Endotélio. 2. Vitamina C. 3. \*Tabagismo. 4.  
                                    \*Vasodilatação medida pelo fluxo. 5. \*Veia dorsal da mão. I.  
                                    Heitor Moreno Júnior. II. Universidade Estadual de Campinas.  
                                    Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

---

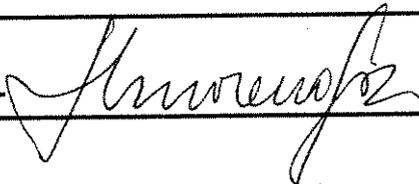
**Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado**

---

---

**Orientador(a): Prof.Dr. Heitor Moreno Júnior**

---

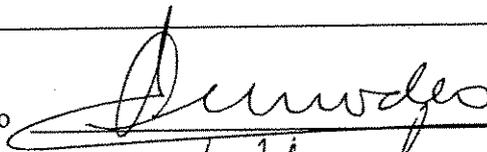


---

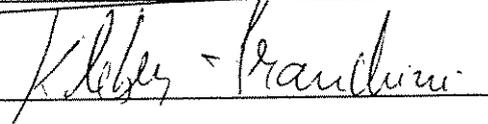
**Membros:**

---

1. Professor Doutor Celso Amodeo



2. Professor Doutor Kleber Gomes Franchini



---

**Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.**

---

**Data: 12/02/03**

---

## ***DEDICATÓRIA***

*Aos meus pais (Manuel e Neide) e aos meus irmãos Sandra e Alexandre pelo carinho, amor e apoio incondicionais.*

## **AGRADECIMENTOS**

---

Ao Prof. Dr. Heitor Moreno Júnior, orientador-pai-amigo, que me deu a oportunidade em seu laboratório de acompanhá-lo e poder aprender ciência, a minha imensa gratidão.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao meu amigo Juan, grande médico e ecocardiografista, que nos deu apoio fundamental para a realização de todo o estudo e não poupou esforços neste sentido. Sempre pronto e visando o ideal conjunto de fazer pesquisa sua convivência foi um incentivo para persistir. E a todos do Instituto de Cardiologia Rio Preto e Clínica São Paulo, meu profundo apreço e carinho (Lúcia, Lívia, Luiz, Olívia e todas as funcionárias).

Aos amigos(as) do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular: Deise, minha irmãzinha e companheira das viagens à Rio Preto de “Itamaraty” e “São Rafael”, sua perseverança e meiguice únicos no trato com voluntários e pacientes; Valerinha, ombro amigo inestimável em momentos “críticos”; Lílian, que em pouco tempo ocupou um espaço importante dando “toques” de uma verdadeira amiga; enfim, Máira, Gisele, Raquel, Márcia, Wladimir, Ondina, Luis Cláudio, Patty, Themys, Silvinha, Joca e Adilson, pela ajuda nos mais diversos aspectos.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Tanus-Santos que, mesmo distante, em poucas palavras, proporcionava alento e tranquilidade em momentos de dúvida.

A todos os amigos do Departamento de Farmacologia: Carlinha, Ivani, Alê, Ágata, Ericleisson, Chariston, Sara, Sissi, Cris, Ju, Renata Pereira, Renata Penaquim, Humberto, Enilton, Roberto, Juan, Luis Otávio, por propiciarem um ambiente amigável, dando força vital na reta final.

Aos funcionários dos Departamentos de Clínica Médica: Renata e Luis Eduardo, e Farmacologia: Gislaine, Guina e Vanderley, pelo suporte técnico sempre presente.

Aos colegas Dr. Eduardo Abib, Dr. Augusto e Prof. Rocha pelo clima amistoso do ambulatório, assim como a Enfermeira Ana e Lucimara, sempre visando o bem-estar do paciente.

Aos meus *roommates*, Adriano e Daniel, pelo companheirismo e a paciência na divisão do espaço.

Ao amigo Marcelo Rubira, pela amizade e orientações técnicas.

Aos meus amigos André, Alessandro, Iruino, Artur e Yuri, que mesmo distantes, mantinham na amizade um braço forte de sustentação.

Ao meu amigo Tom, pela irmandade sincera e pelos momentos de descontração necessários ao longo de tanto estudo.

Aos Drs. Leopoldo Piegas, Edson Renato Romano, Enilton Tabosa do Egito, Marcos Barbosa, Fernando Burgus, César Augusto Conforti, Silvio Carlos Santos e aos colegas de profissão pela compreensão e apoio a mim conferidos.

À minha família: Sr. Manuel, D. Neide, Sandra, Eduardo, Alexandre, Luciana, Amanda, tios, tias, primos e primas, pelas palavras de incentivo a mim proferidas, que sempre serviram de suporte em momentos difíceis.

Enfim, a minha profunda gratidão a todos que direta ou indiretamente colaboraram nos mais diversos aspectos (técnicos, profissionais, psicológicos, científicos, etc...) para a concretização deste ideal. O meu sincero: MUITO OBRIGADO!!!!

*“Na vida, pouca coisa sabe-se com certeza,  
por isso, fazemos o que achamos certo, e  
agüentamos as conseqüências”.*

*Ajax*

	<b>PÁG.</b>
<b>RESUMO</b> .....	<i>xiii</i>
<b>ABSTRACT</b> .....	<i>xv</i>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	17
1.1. História do Tabaco.....	18
1.2. Constituintes da fumaça do cigarro e exposição ativa e passiva ao tabaco...	19
1.3. Introdução.....	19
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	22
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	24
3.1. Comitê de Ética em Pesquisa.....	25
3.2. Seleção de voluntários.....	25
3.2.1. Critérios de inclusão.....	25
3.2.2. Critérios e exclusão.....	25
3.2.3. Consentimento dos voluntários.....	25
3.3. Voluntários estudados.....	26
3.3.1. Grupo 1 Controles.....	26
3.3.2. Grupo 2 Tabagistas.....	26
3.4. Protocolo do Estudo.....	26
3.4.1. Técnica da veia dorsal da mão.....	27
3.4.2. Vasodilatação mediada pelo fluxo.....	29
3.4.3. Monitorização não invasiva da pressão sanguínea.....	31
3.4.4. Drogas Utilizadas.....	32

3.4.5. Análise Estatística.....	33
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>34</b>
4.1. Características do grupos estudados.....	35
4.2. Efeitos da Vitamina C na função endotelial venosa.....	35
4.3. Efeitos da vitamina C na função endotelial arterial.....	38
4.4. Efeitos hemodinâmicos.....	38
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>44</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>46</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>56</b>
8.1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	57
8.2. Ficha clínica.....	59
8.3. Consentimento informado.....	62

## *LISTA DE ABREVIATURAS*

---

<b>BK</b>	bradicinina
<b>bpm</b>	batimentos por minuto
<b>DPM</b>	desvio padrão da média
<b>ED<sub>50</sub></b>	dose que promove 50% do efeito
<b>E<sub>max</sub></b>	efeito máximo
<b>FC</b>	frequência cardíaca
<b>FMD</b>	dilatação mediada pelo fluxo
<b>GMPc</b>	guanosina monofosfato cíclico
<b>LDL - l</b>	ipoproteína de baixa densidade
<b>ml</b>	mililitro
<b>NO</b>	óxido nítrico
<b>NPS</b>	nitroprussiato de sódio
<b>NTG</b>	nitroglicerina
<b>p</b>	significância estatística
<b>PAM</b>	pressão arterial média
<b>pg</b>	picograma
<b>t<sup>1/2</sup></b>	tempo de meia-vida
<b>TVDM</b>	técnica da veia dorsal da mão
<b>vs</b>	versus
<b>X</b>	média

## LISTA DE TABELAS

---

	<i>PÁG.</i>
<b>Tabela 1:</b> Características clínicas dos grupos estudados.....	35
<b>Tabela 2:</b> Emax (%) e logED <sub>50</sub> em controles e tabagistas, pré e pós-administração de vitamina C à infusão de bradicinina (média ± DPM).....	36
<b>Tabela 3:</b> Emax (%) e logED <sub>50</sub> em controles e tabagistas, pré e pós-administração de vitamina C à infusão de nitroprussiato de sódio (média ± DPM).....	37
<b>Tabela 4:</b> Variação % do diâmetro da artéria braquial em não tabagistas e tabagistas, pré e pós administração de Vitamina C através da dilatação mediada pelo fluxo (média ± DPM).....	38

## LISTA DE FIGURAS

---

	<i>PÁG.</i>
<b>Figura 1:</b> Técnica da veia dorsal da mão (Aellig, 1981).....	27
<b>Figura 2:</b> Transformador diferencial de variação linear.....	28
<b>Figura 3:</b> Vasodilatação mediada pelo fluxo (FMD).....	29
<b>Figura 4:</b> Figura representativa da vasodilatação medida pelo fluxo em um indivíduo tabagista. A Basal; B. Pós-hiperemia reativa e C. Pós-nitroglicerina sublingual.....	31
<b>Figura 5:</b> Portapres: sistema de monitorização não-invasiva.....	32
<b>Figura 6:</b> Curvas doses-resposta à BK. Círculos vazios correspondem aos não tabagistas sem infusão de vitamina C (n=6), círculos sólidos correspondem aos não tabagistas com coinfusão de vitamina C (n=6), quadrados vazios correspondem aos tabagistas moderados sem vitamina C (n=7) e quadrados sólidos correspondem aos tabagistas moderados com coinfusão de vitamina C (n=7). Os pontos correspondem à média $\pm$ DPM dos dados na tabela 2.....	36
<b>Figura 7:</b> Curvas doses-resposta ao nitroprussiato de sódio. Círculos vazios correspondem aos não tabagistas sem infusão de vitamina C (n=6), círculos quadrados vazios correspondem aos tabagistas moderados sem vitamina C (n=7) e quadrados sólidos correspondem aos tabagistas moderados com coinfusão de vitamina C (n=7). Os pontos correspondem a média $\pm$ DPM dos dados na tabela 3.....	37



*RESUMO*

Fumar é o mais importante fator de risco modificável para aterosclerose. O tabagismo está fortemente ligado a disfunção endotelial. Tem sido sugerido que a disfunção endotelial possa ser consequência do aumento da degradação do óxido nítrico secundária a formação de radicais livres derivados do oxigênio. O cigarro contém uma grande quantidade destes radicais livres e hipóteses têm sido levantadas sobre seus efeitos adversos resultantes do dano oxidativo a substâncias biológicas, dentre estas, o óxido nítrico.

A vitamina C é o mais potente antioxidante solúvel em água no plasma humano, sendo capaz de retirar uma grande variedade de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio, incluindo radicais superóxido. Alguns estudos têm demonstrado melhora da resposta dependente do endotélio no leito arterial de tabagistas com infusão aguda de vitamina C. Há uma significativa heterogeneidade da função endotelial dentro da circulação. Desde que veias não são susceptíveis à aterosclerose, no presente estudo, investigamos o efeito da infusão aguda de vitamina C no leito venoso através da técnica da veia dorsal da mão (TVDM) e no leito arterial através da dilatação mediada pelo fluxo (FMD), permitindo, assim, a comparação de ambos os territórios endoteliais.

Estudamos 6 não fumantes saudáveis e 7 fumantes moderados saudáveis através da técnica da complacência da veia dorsal da mão e vasodilatação mediada pelo fluxo. Curvas dose-resposta à bradicinina (BK) e nitroprussiato de sódio (NPS) foram construídas para testar o relaxamento dependente e não-dependente do endotélio venoso antes e após a infusão aguda de vitamina C. Pressão arterial, frequência cardíaca, resistência vascular sistêmica e débito cardíaco foram medidos batimento a batimento durante todo o estudo através do portapres, um método contínuo de aferição de pressão arterial digital não-invasivo. Os tabagistas moderados apresentaram uma resposta vascular dependente do endotélio reduzida em ambos os leitos vasculares quando comparados a indivíduos não tabagistas (venoso  $E_{max} = 71,2 \pm 17,3\%$  vs  $95,7 \pm 21,2\%$  e arterial  $8,5 \pm 3,7\%$  vs  $16,2 \pm 2,7\%$ ;  $p < 0,05$ ). A administração aguda de vitamina C restaurou similarmente a responsividade vascular dependente do endotélio no leito venoso ( $E_{max} = 71,2 \pm 17,3\%$  e  $88,3 \pm 7,0\%$ ; respectivamente antes e após sua administração;  $p < 0,05$ ) e arterial ( $8,5 \pm 3,7\%$  e  $17,7 \pm 7,7\%$ ; respectivamente antes e após sua administração;  $p < 0,05$ ) em tabagistas moderados. A responsividade não-dependente do endotélio foi inalterada entre os grupos estudados.



***ABSTRACT***

**Background:** Chronic smoking is associated with endothelial dysfunction. Vitamin c, an antioxidant, improves the endothelium-mediated vasodilatation in arteries in smokers. There is significant heterogeneity of endothelial function within the circulation. Since veins are generally not susceptible to atherosclerosis, this model allows comparable assessment of changes in endothelial function between both territories.

**Methods and Results:** We studied 06 healthy non-smokers and 07 healthy moderate smokers with the dorsal hand vein compliance technique and the flow mediated dilation. Dose response curves to bradykinin (BK) and sodium nitroprusside (SNP) were constructed to test the endothelium-dependent and non-dependent relaxation before and after acute infusion of vitamin C (25mg/min). Smokers had an impaired vasodilatation to bradykinin compared to non-smokers ( $E_{max} = 95,7 \pm 21,2\%$  vs  $71,2 \pm 17,3\%$ ; respectively,  $p < 0,05$ ). Vitamin C administration in dorsal hand vein significantly increased the vasodilatation to bradykinin in smokers ( $E_{max} = 71,2 \pm 17,3\%$  vs  $88,3 \pm 7,0\%$ ;  $p < 0,05$ ) but not in non-smokers ( $E_{max} = 95,7 \pm 21,2\%$  vs  $82,7 \pm 4,1\%$ ; non significant). Similarly, the arterial response in smokers had an impaired endothelium-dependent dilatation compared to non-smokers ( $16,2 \pm 2,7\%$  vs  $8,5 \pm 3,7\%$ ; respectively,  $p < 0,05$ ) and vitamin C restored this response in smokers ( $8,5 \pm 3,7\%$  vs  $17,7 \pm 7,7\%$ ;  $p < 0,05$ ) but not in non-smokers ( $16,2 \pm 2,7\%$  vs  $14,4 \pm 4,1\%$ ; non significant). The endothelium non-dependent dilatation did not differ in the studied groups.

**Conclusions:** Smokers had similar impaired endothelium-dependent vasodilatation responsiveness in both vascular beds. Vitamin c restores the impaired endothelium-dependent responsiveness in smokers.



## *INTRODUÇÃO*

## 1.1. HISTÓRICO DO TABACO

A mais antiga evidência do uso do tabaco aparece esculpida em pedra Maya, datada de 600 a 900 DC. O cultivo do tabaco para mascar e fumar já era natural em todo o continente sul americano e australiano quando os exploradores europeus lá chegaram. O tabaco era desconhecido pelos europeus anteriormente às viagens de Colombo. No final do século XV, marinheiros espanhóis e portugueses transportavam plantas de nicotiana tabacum quando retornavam de suas viagens. O fumo difundiu-se pela Europa no século XVI, chegando à Inglaterra principalmente como resultado da adesão por Raleigh na corte de Elizabeth I. James I desaprovou Raleigh e o tabaco, e iniciou a primeira campanha antitabagismo no início do século XVII com o apoio da Royal College of Physicians. Introduzido por John Rolfe na Virgínia, em 1612, o cultivo do tabaco logo se tornou a base econômica para as colônias britânicas na América do Norte. No começo do século XVIII, o tabaco já era cultivado em todo o mundo (BROOKS, 1952; RANG et al, 1996).

Até a metade do século XIX, o tabaco cultivado comercialmente era utilizado principalmente para mascar e fumar em cachimbos ou charutos. Anteriormente à invenção do fósforo em 1827, fumar era conveniente somente em locais onde já houvesse fogo. Assim, os fósforos foram acessórios importantes na disseminação do hábito de fumar, tendo sido introduzidos no mercado e produzidos em massa a partir de 1845. Por outro lado, até então, os cigarros eram enrolados manualmente, por imigrantes russos e mulheres nas cidades de Nova Iorque e Richmond. Como um bom enrolador de cigarros podia produzir apenas cerca de 2500 a 3000 cigarros por dia, o cigarro tornou-se um produto de luxo consumido pelas classes economicamente privilegiadas. Em 1881, James Bonsack inovou a indústria tabagista com a máquina Bonsack, que aumentava a produção para 120.000 cigarros por dia, por máquina. Atualmente, os avanços tecnológicos ocorridos neste século permitiram a construção de máquinas que fazem até 8000 cigarros por minuto (SLADE, 1992).

O uso de cigarros por mulheres começou após a I Guerra Mundial. Atualmente o tabaco é cultivado comercialmente em vários países, sendo os maiores produtores os EUA, a China, a Índia e a antiga URSS (RANG et al, 1996).

## **1.2. CONSTITUINTES DA FUMAÇA DO CIGARRO E EXPOSIÇÃO ATIVA E PASSIVA AO TABACO**

A exposição ativa e passiva à fumaça proveniente do tabaco é uma importante causa de mortalidade nos Estados Unidos, sendo projetada como contribuinte para mais de 400.000 mortes anualmente (GIDDING et al, 1994). A American Heart Association formalmente concluiu que o fumo passivo é um importante fator de risco para doença cardíaca em adultos e crianças (TAYLOR et al, 1992; GIDDING et al, 1994). A exposição ambiental à fumaça do cigarro ocorre quando a fumaça é inalada a partir da ponta do cigarro aceso, sendo este tipo de exposição perigoso pelas altas concentrações de amônia, benzeno, nicotina, monóxido de carbono, radicais livres e muitos outros carcinogênicos e irritantes (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1986; REPACE, 1987).

A exposição passiva ao tabaco causa disfunção endotelial (CELERMAJER et al, 1996; WOO, 1998), fato que promove um importante problema de saúde pública.

## **1.3. INTRODUÇÃO**

Não há outro comportamento humano semelhante ao potencial destrutivo do consumo de tabaco. O tabagismo é um importante fator de risco modificável para aterosclerose e tem nítida associação com doença cardiovascular, vasculopatias periféricas, acidentes vasculares cerebrais, enfisema, bronquite crônica e câncer em diversos locais do organismo, sendo inclusive responsável por 85% de todos os casos de câncer pulmonar (FORTMANN, 1996).

Além do presumível estímulo dependente da nicotina no simpático e inativação dos controles cardiovasculares vagais (GROPPELLI et al, 1992, GRASSI, 1994), diversos estudos têm demonstrado que o tabagismo está associado à diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) derivado do endotélio em artérias (KIOWSKI et al, 1994; HEITZER et al, 1996) e veias (HIGMAN et al, 1993; HIGMAN et al, 1996).

Demonstrou-se com a técnica da veia dorsal da mão que tabagistas (maior de 30 cigarros/dia) têm uma diminuição na venodilatação em resposta à bradicinina (BK) e que parar de fumar resulta em restauração desta diminuição em menos de 48 horas (MORENO et al, 1998).

O mecanismo preciso da disfunção endotelial induzida pelo fumo é desconhecido. Numerosos compostos contidos na fumaça do cigarro podem ser responsáveis por esta resposta dose-dependente diminuída em tabagistas (CELERMAJER et al, 1993). Dentre estes, podemos citar a nicotina (SABHA et al, 2000; NEUNTEUFL et al, 2002), monóxido de carbono (REPORT OF THE SURGEON GENERAL, 1990) e radicais livres de oxigênio (TSUCHIYA et al, 2002). Elementos altamente reativos presentes na fumaça do cigarro podem induzir ativação plaquetária (SALVEMINI e BOTTING, 1993) e disfunção vascular (STEINBERG, 1991).

Baixos níveis plasmáticos de NO (NODE et al, 1997) associado a baixas concentrações plasmáticas de vitamina C, têm sido observados em tabagistas (TSUCHIYA et al, 2002). A vitamina C é o mais potente antioxidante solúvel em água no plasma humano (FREI et al, 1990) e possui um largo espectro de atividade devido a sua habilidade de reagir com uma grande variedade de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio, incluindo radicais superóxido, e proteger efetivamente os lípides plasmáticos contra a peroxidação (FREI et al, 1989; FONTANA et al, 1999). Alguns estudos têm demonstrado melhora da resposta dependente do endotélio no leito arterial de tabagistas com infusão aguda de vitamina C (MOTOYAMA et al, 1997; MAYS et al, 1999; HEITZER et al, 1996), mas seus efeitos no endotélio venoso *in vivo* ainda possui mecanismos pouco compreendidos, sendo sugerido inclusive propriedades vasodilatadoras pela ativação da musculatura lisa vascular pelos canais de potássio através do GMPc, isto é, por uma via não dependente do endotélio (GROSSMANN et al, 2001).

Em contraste com a contínua produção de NO pelo endotélio arterial, a produção basal de NO venoso têm demonstrado ser muito baixa (LUSCHER et al, 1988; LIU et al, 2000). Por outro lado, estudo recente *in vitro* com culturas de células endoteliais de ratos, demonstrou altos níveis protéicos de eNOS, de atividade da NOS e de L-arginina intracelular em veias comparadas a artérias (WAGNER et al, 2001). Há considerável

evidência de que exista uma heterogeneidade entre os endotélios venoso e arterial (BOEGEHOLD, 1998). Investigamos o efeito da infusão aguda de vitamina C no leito venoso através da técnica da veia dorsal da mão (TVDM) e no leito arterial através da dilatação mediada pelo fluxo (FMD).



***OBJETIVOS***

Avaliar os efeitos da infusão aguda de vitamina C na disfunção vascular nos leitos venoso e arterial em tabagistas.



***MATERIAS E  
MÉTODOS***

### **3.1. COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), conforme anexo I.

### **3.2. SELEÇÃO DE VOLUNTÁRIOS**

#### **3.2.1. Critérios de inclusão**

Todos os voluntários foram submetidos a anamnese, exame físico completo (anexo II) e exames de sangue (hemograma completo com contagem de plaquetas, glicemia, uréia, creatinina, transaminases, potássio, colesterol total e frações, triglicérides e ácido úrico) e sedimento urinário, antes de serem admitidos no estudo.

Os participantes não receberam qualquer medicação nos últimos sete dias e a ingestão de álcool e produtos que contivessem cafeína não foram permitidas nas últimas 24 horas que antecederam os estudos.

#### **3.2.2. Critérios de exclusão**

Qualquer anormalidade na avaliação pré-estudo (anamnese, exame físico, exames de sangue e urina), sendo o indivíduo informado dos resultados anormais e encaminhado ao serviço de assistência médica privada ou pública, se necessário.

Mulheres que estivessem utilizando contraceptivos orais ou que não tivessem sido anteriormente submetidas a procedimento cirúrgico para esterilização foram excluídas do estudo.

#### **3.2.3. Consentimento dos voluntários**

Os voluntários que participaram deste trabalho assinaram o termo de consentimento informado (anexo III), o qual foi avaliado e aprovado previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e do Instituto de Cardiologia Rio Preto, e foram informados da natureza do mesmo.

Os voluntários também preencheram um questionário padrão para avaliação de fatores de risco para doença arterial coronariana (pessoal e familiar).

### **3.3. VOLUNTÁRIOS ESTUDADOS**

Participaram do estudo, voluntários de ambos os sexos, com idades entre 18 e 55 anos, divididos em dois grupos:

**3.3.1. Grupo 1** - Controles (n=6): Indivíduos sadios normotensos, não tabagistas, não obesos e não diabéticos.

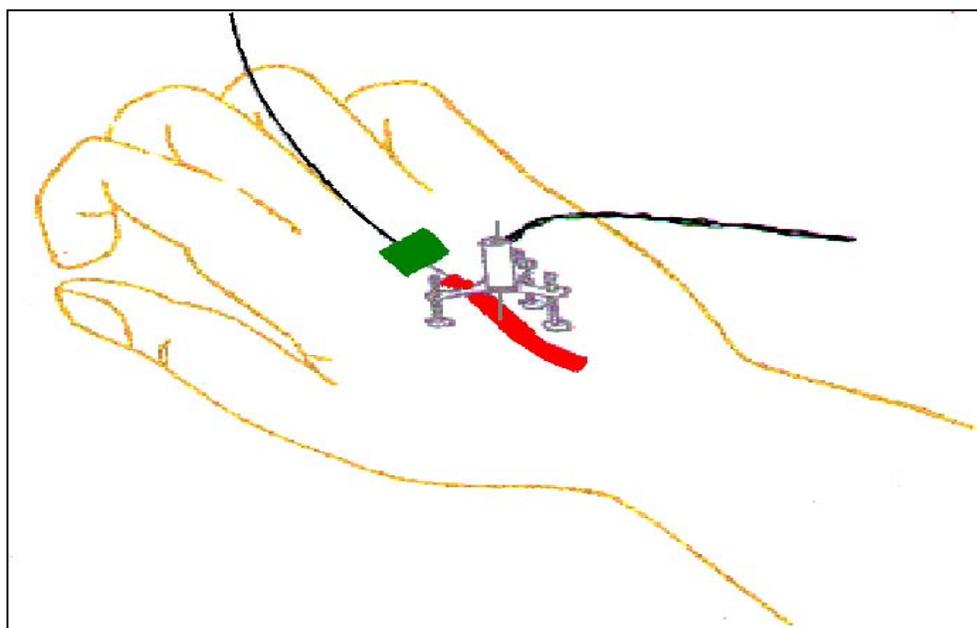
**3.3.2. Grupo 2** – Tabagistas (n=7): Indivíduos tabagistas moderados (média de 20 cigarros/dia), normotensos, não obesos e não diabéticos.

### **3.4. PROTOCOLO DO ESTUDO**

Este foi um estudo com grupo controle, cruzado e cego-simples. Os voluntários foram admitidos no Instituto de Cardiologia Rio Preto em quatro ocasiões diferentes, para estudos de 4 horas. Duas ocasiões para realizarem os estudos da técnica da veia dorsal da mão, sem vitamina C e com vitamina C (25mg/min) e as outras duas para realização da vasodilatação mediada pelo fluxo, sem e com vitamina C (25mg/min). Fumantes foram estimulados a consumirem cigarros nos minutos que antecederam o estudo para estimular a resposta à BK. Os indivíduos permaneceram na posição supina e um catéter venoso foi inserido na veia dorsal da mão para coleta de amostras de sangue.

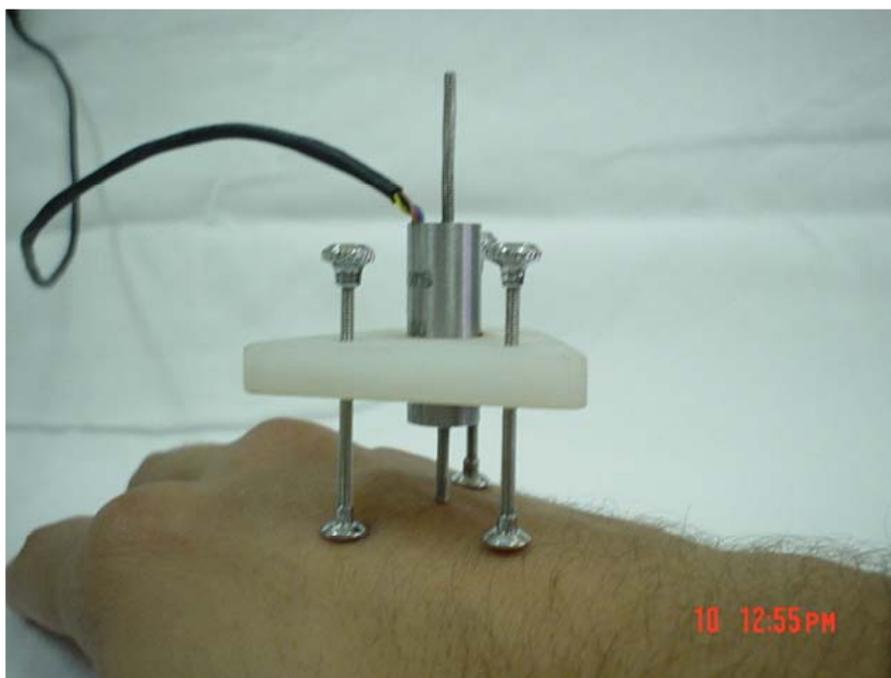
### 3.4.1. Técnica da veia dorsal da mão (figura 1)

Este método foi usado como descrito previamente (AELLIG, 1981; DACHMAN, 1993). Os indivíduos permaneceram em supino à temperatura ambiente entre 21 e 23 °C. Um braço ficou apoiado em ângulo de 30° a 45° da horizontal para assegurar o esvaziamento das veias superficiais da mão. Uma agulha tipo *butterfly* 23 (*scalp*) foi inserida em uma veia dorsal da mão e infusão contínua de solução salina com fluxo de 0,317ml/min foi estabelecida.



**Figura 1.**

Após 30 minutos, um transdutor diferencial de variável linear (LVDT modelo 100 MHR, Schaevitz Engineering, Pennsauken, NJ, USA) foi montado no dorso da mesma mão por meio de um tripé e fixado firmemente à pele (figura 2). Quando o pino móvel do transdutor foi apropriadamente centralizado com o transformador e colocado no topo da veia, houve relação linear entre o movimento vertical do pino e a produção de voltagem, a qual foi amplificada e registrada.



**Figura 2.**

Os registros foram feitos antes e após a insuflação do esfigmomanômetro, no mesmo braço, a 45 mmHg. Os resultados apresentados são curvas doses-resposta, na qual o diâmetro da veia durante a infusão de solução salina com o esfigmomanômetro insuflado foi definido como relaxamento de 100%. Para estudar os efeitos de substâncias vasodilatadoras, a veia era pré-constricta através de infusão de fenilefrina (99-3166 ng/min), um agonista seletivo adrenérgico  $\alpha_1$ , até que a dose produzisse aproximadamente 75 a 80% da constrição da veia ( $ED_{80}$ ). Esta dose de fenilefrina era mantida para o estudo subsequente de drogas veno-relaxantes, inclusive durante o período de *washout* entre duas curvas doses-resposta. O grau de pré-constricção foi definido como dilatação 0%. A venodilatação produzida pela bradicinina (BK; 1-278 ng/min) e nitroprussiato de sódio (NPS; 0,0187-3166 ng/min), durante a infusão aguda de vitamina C ou salina, foram calculados como uma porcentagem entre o limite máximo e 0% de vasodilatação.

As curvas doses-resposta à BK e NPS foram construídas usando-se cinco doses de infusão. As infusões para cada dose duravam no máximo 3 minutos, com o esfigmomanômetro insuflado a 45 mmHg por, no mínimo, 2 minutos de infusão.

### 3.4.2. Técnica da vasodilatação mediada pelo fluxo (figura 3)

Todos os voluntários foram submetidos à pesquisa da reatividade vascular de forma não invasiva com ultra-som doppler de alta resolução (CORRETTI et al, 2002), usando equipamento marca ATL HDI (High Resolution Ultrasound) e transdutor vascular linear de alta resolução (frequência de 7 Mhz) acoplado a um microcomputador com Dynamic Endothelium Assessment Software (CD-MED, USA - específico para estudo dinâmico da função vascular e endotelial)

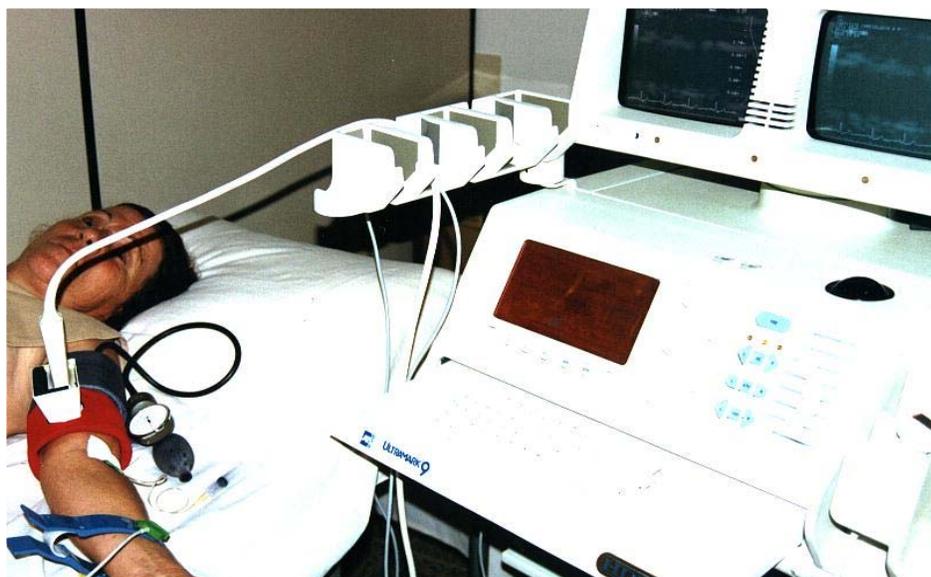
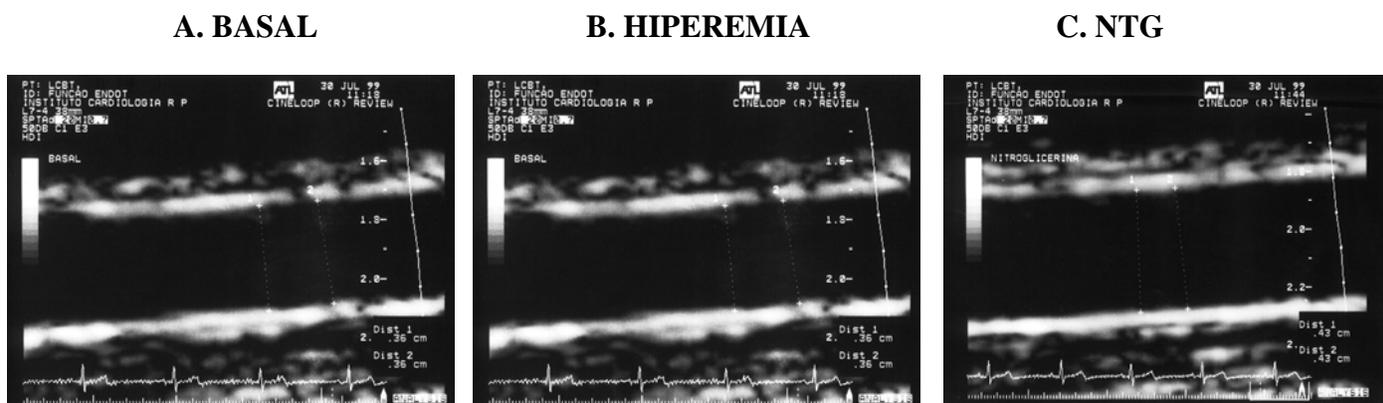


Figura 3.

O estudo foi iniciado com a mensuração do diâmetro da artéria braquial e quantificação do fluxograma doppler de onda pulsada (doppler pulsado pw). As imagens foram gravadas em videocassete Super VHS e/ou arquivo digital *workstation pentium 233* marca *Mediware* (Brasília/Brasil). As mensurações com ultra-som doppler foram realizadas em repouso, durante hiperemia reativa, novamente em repouso (recuperação) e após nitroglicerina sublingual. Antes do início da primeira mensuração, o participante teve de permanecer em repouso absoluto, em decúbito dorsal e comodamente instalado por um período de 10 a 15 minutos. Foi realizado então o corte ultrassonográfico longitudinal da artéria braquial, aproximadamente 2 a 15 cm acima da prega do cotovelo, até obter-se uma imagem nítida. O quadro central da artéria foi identificado claramente e, as camadas íntimas,

anterior e posterior, bem delimitadas. A zona de transmissão ou zona focal foi calibrada para a profundidade desejada utilizando o maior campo possível da tela do monitor. Nos casos de grande dificuldade, a zona de transmissão foi modificada, focalizando-se a parede proximal o mais nitidamente possível e, para avaliação da parede distal, foram aumentados os ganhos em profundidade visualizando-se a linha “m” (interface média-adventícia). Com a compensação em profundidade, foi otimizada a imagem da interface lúmen/parede arterial e, a seguir, a imagem foi amplificada. Os parâmetros de operação da máquina, uma vez regulados, não foram alterados durante todo o exame. Quando uma posição satisfatória do transdutor fosse obtida, a pele foi marcada e posicionou-se o suporte do transdutor (*holder-probe*) criado para este estudo; o braço permaneceu na mesma posição durante todo o estudo apoiado numa braçadeira confortável especialmente desenhada para esta finalidade. As imagens bidimensionais iniciais em repouso foram gravadas e as curvas espectrais das velocidades de fluxo foram mensuradas, usando-se doppler pulsado (pw), com o cursor do sinal a um ângulo de 70 graus em relação à parede arterial e a amostra-volume de 1.5 cm, localizada na região central da luz do vaso. A seguir, o estímulo mecânico (hiperemia reativa) foi provocado pela aplicação de um manguito pneumático no braço da artéria em estudo e insuflado até atingir 250-300 mmhg, permanecendo nesta situação durante 4-5 minutos, quando foi desinsuflado. A segunda mensuração foi iniciada 15 segundos antes da desinsuflação do manguito pneumático continuando por 90 segundos após a desinsuflação. O estudo doppler do fluxo arterial, nesta fase, foi realizado nos primeiros 15 segundos após a desinsuflação do manguito. Após descanso de 15 minutos para permitir a recuperação vascular, foi realizada a terceira mensuração, denominada fase de recuperação, com a técnica e os parâmetros de avaliação descritos acima. Finalmente, foi realizada a estimulação farmacológica com nitroglicerina, vasodilatador que atuando diretamente na musculatura lisa vascular provoca dilatação arterial não-dependente do endotélio. A quarta mensuração foi realizada 3 a 4 minutos após a administração de nitroglicerina sublingual; foram então realizados os mesmos cortes ultrassonográficos bidimensionais, assim como o estudo doppler pulsado e as imagens armazenadas conforme descritos anteriormente. Após a verificação do estado geral do participante, este foi liberado e posteriormente informado dos resultados do seu teste.

Todas as imagens foram gravadas em videocassete Super VHS e/ou *workstation* para análise posterior (figura 4).



**Figura 4.**

O diâmetro da artéria braquial foi medido quatro vezes consecutivamente usando o caliper do equipamento ultra-som doppler. As medidas foram tomadas a partir da interface lúmen/parede arterial, no sentido da parede anterior para a posterior, no final da diástole. O diâmetro médio foi calculado a partir de 4 ciclos cardíacos incidentes com a onda r do ECG. As mudanças em porcentagem do diâmetro da artéria braquial foram comparadas com o primeiro diâmetro basal (100%). O volume de fluxo sanguíneo foi calculado multiplicando-se a Integral da Velocidade no Tempo (VTI), do sinal de fluxo doppler corrigido para o ângulo, pela frequência cardíaca e pela área seccional transversa da artéria braquial ( $3,1416 \times r^2$ ).

### **3.4.3. Monitorização não invasiva da pressão sanguínea**

Foram monitorizadas as pressões arteriais médias (PAM; mmHg), frequência cardíaca (FC; bpm), resistência vascular sistêmica (RVS;  $\text{dinas/seg/cm}^{-5}/\text{m}^2$ ) e débito cardíaco (DC; l/min), batimento a batimento, através do sistema PORTAPRES (SCHMIDT et al, 1992; ECKERT e HORSTKOTTE, 2002) (figura 5). Este aparelho mede a pressão sanguínea através de dois dedos adjacentes, alternadamente em períodos pré-determinados. As medidas foram registradas durante o período de estudo e analisadas pelo *software* beatscope.



**Figura 5.**

#### **3.4.4. Drogas utilizadas**

As seguintes drogas foram utilizadas:

Cloridrato de fenilefrina (1%; Winthrop Labs; New York, NY, USA): um  $\alpha_1$ -agonista seletivo, utilizado para pré-constricção da veia.

Bradicinina (Clinalfa; Laeufelfingen, CH, Switzerland): um potente vasodilatador cuja ação é, pelo menos em parte, mediada pelo NO.

Nitroprussiato de sódio (Elkins-Sinn Inc; Cherry Hill, NJ, USA): um potente vasodilatador que promove relaxamento direto da musculatura lisa vascular independentemente do endotélio.

Nitroglicerina (Nitrostat 0,4 mg. Parke-Davis, USA): vasodilatador coronariano, com efeito sistêmico menor, que promove relaxamento direto da musculatura lisa vascular independentemente do endotélio.

### **3.4.5. Análise Estatística**

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  DPM. As curvas dose-resposta à bradicinina e ao nitroprussiato de sódio foram ajustadas ao modelo sigmóide (MACKAY, 1988), analisando-se os valores de efeito máximo ( $E_{max}$ ) e que causam 50% de  $E_{max}$  ( $ED_{50}$ ). Testes paramétricos (Teste t-student pareado e não pareado) foram usados para comparação dos grupos. O valor da probabilidade  $p < 0,05$  foi considerado o nível mínimo para significância estatística.



***RESULTADOS***

#### 4.1. CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS ESTUDADOS

A tabela 1 apresenta as características básicas dos indivíduos estudados. Nenhuma diferença significativa foi encontrada nos parâmetros avaliados.

**Tabela 1.** Características clínicas dos grupos estudados

	Controles	Tabagistas
Sexo (M/F)	3/3	3/4
Idade (anos)	30.0 ± 8.1	39.6 ± 9.6
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	22.5 ± 4.0	22.5 ± 2.5
Número de cigarros/dia	-	19.7 ± 5.1
PAM (mmHg)	82,1 ± 6,2	87.9 ± 8.4
Glicemia (mg/dl)	88,3 ± 4,5	83,3 ± 6,7
Colesterol total (mg/dl)	165,0 ± 41,3	180 ± 31,3
Triglicérides (mg/dl)	99,2 ± 53,4	102,3 ± 45,2
Creatinina (mg/dl)	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,2

Valores dados em média ± DPM.

#### 4.2. EFEITOS DA VITAMINA C NA FUNÇÃO ENDOTELIAL VENOSA

A resposta vasodilatadora venosa à BK está diminuída em tabagistas comparada a não tabagistas ( $E_{max} = 71,2 \pm 17,3\%$  e  $95,7 \pm 21,2\%$ ; respectivamente – Tabela 2; figura 6). A administração de vitamina C restaurou a responsividade da veia dorsal à BK em tabagistas ( $E_{max} = 71,2 \pm 17,3\%$  e  $88,3 \pm 7,0\%$ ; respectivamente pré e pós-administração de vitamina C – Tabela 2; figura 6). A administração de vitamina C não alterou a vasodilatação induzida pelo nitroprussiato de sódio nos dois grupos (Tabela 3;

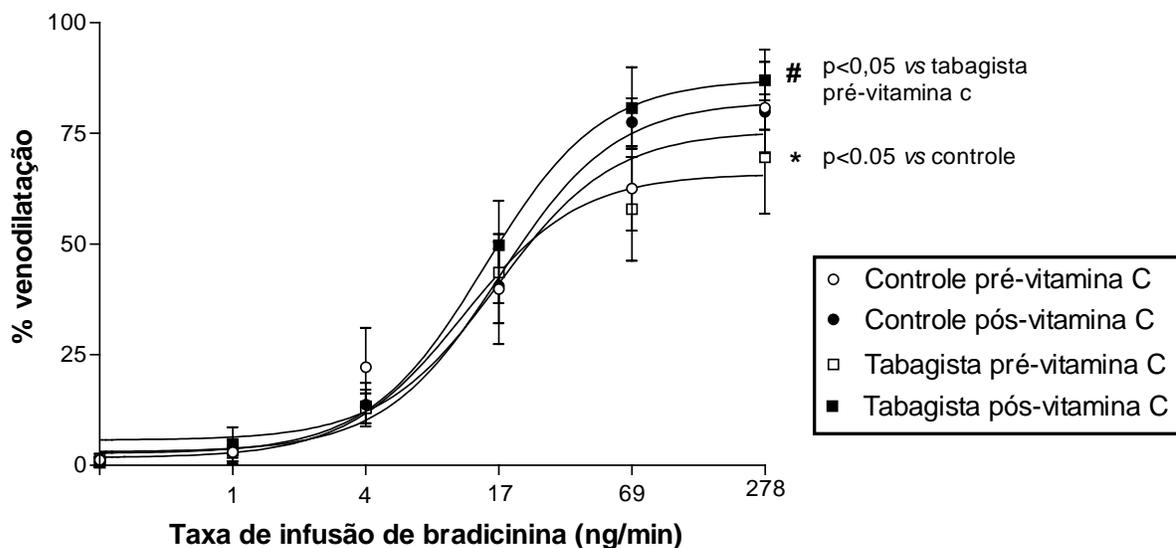
figura 7). Valores de ED<sub>50</sub> não foram diferentes em tabagistas e não tabagistas antes e após a infusão de vitamina C (Tabelas 2 e 3; figuras 6 e 7).

**Tabela 2.**  $E_{max}$  (%) e logED<sub>50</sub> em controles e tabagistas, pré e pós-administração de vitamina C à infusão de bradicinina (média ± DPM).

	Controles Pré-vita C	Controles Pós-vita C	Tabagistas Pré-vita C	Tabagistas Pós-vita C
<b>E<sub>max</sub></b>	95.7 ± 21.2	82.7 ± 4.1	71.2 ± 17.3*	88.3 ± 7.0 <sup>#</sup>
<b>ED<sub>50</sub></b>	40.0 ± 39.8	17.2 ± 5.1	15.0 ± 8.4	15.0 ± 3.9
<b>LogED<sub>50</sub></b>	1.4 ± 0.5	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.1

\* P < 0.05 vs controles

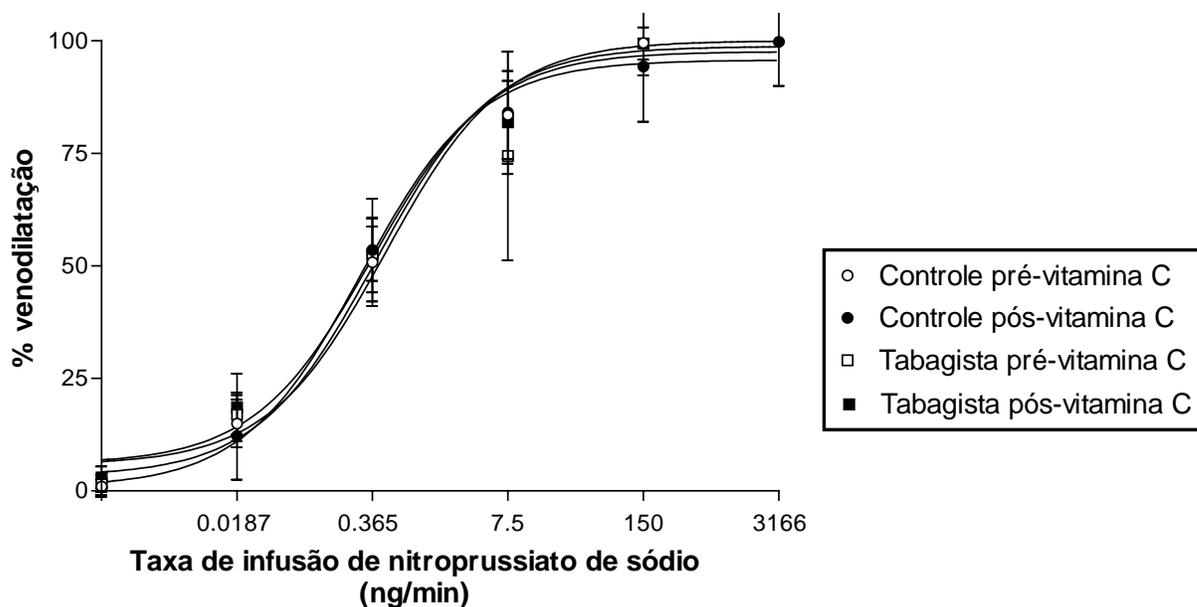
<sup>#</sup> P < 0.05 vs tabagistas pré-vita C



**Figura 6.**

**Tabela 3.**  $E_{max}$  (%) e  $\log ED_{50}$  em controles e tabagistas, pré e pós a administração de vitamina C à infusão de nitroprussiato de sódio (média  $\pm$  DPM).

	Controles Pré-vita C	Controles Pós-vita C	Tabagistas Pré-vita C	Tabagistas Pós-vita C
<b>E<sub>max</sub></b>	104.8 $\pm$ 9.1	98.5 $\pm$ 11.6	111.2 $\pm$ 13.0	103.4 $\pm$ 5.2
<b>ED<sub>50</sub></b>	0.5 $\pm$ 0.3	0.4 $\pm$ 0.2	4.4 $\pm$ 9.9	0.6 $\pm$ 0.4
<b>LogED<sub>50</sub></b>	-1.0 $\pm$ 0.9	-0.5 $\pm$ 0.3	-0.9 $\pm$ 3.2	-1.7 $\pm$ 3.4



**Figura 7.**

### 4.3. EFEITOS DA VITAMINA C NA FUNÇÃO ENDOTELIAL ARTERIAL

A resposta vasodilatadora arterial à hiperemia reativa está diminuída em tabagistas comparada a não tabagistas ( $8,5 \pm 3,7\%$  e  $16,2 \pm 2,7\%$ ; respectivamente). A administração de vitamina C restaurou a responsividade da artéria braquial à hiperemia reativa em tabagistas ( $8,5 \pm 3,7\%$  e  $17,7 \pm 7,7\%$ ; respectivamente pré e pós-administração de vitamina C). A administração de vitamina C não alterou a vasodilatação induzida pela nitroglicerina sublingual nos dois grupos.(Tabela 4).

**Tabela 4.** Variação % do diâmetro da artéria braquial em não tabagistas e tabagistas, pré e pós-administração de vitamina C através da dilatação mediada pelo fluxo (média  $\pm$  DPM).

	Controles Pré-Vita C	Controles Pós-Vita C	Tabagistas Pré- Vita C	Tabagistas Pós- Vita C
Hiperemia	$16,2 \pm 2,7$	$14,4 \pm 4,1$	$8,5 \pm 3,7^*$	$17,7 \pm 7,7^\#$
NTG	$25,9 \pm 5,7$	$27,1 \pm 6,4$	$21,7 \pm 4,3$	$28,9 \pm 8,6$

\* P <0.05 vs controle

# P <0.05 vs tabagistas pré-vita C

### 4.4. EFEITOS HEMODINÂMICOS

Não houve alterações nos parâmetros hemodinâmicos avaliados em todos os grupos estudados.



*DISCUSSÃO*

O principal achado desta investigação é que a reduzida reatividade vascular dependente do endotélio em tabagistas foi revertida com a infusão aguda de vitamina C similarmente em ambos os leitos vasculares, arterial e venoso. Em contraste com a produção contínua de NO pelo endotélio arterial, a produção basal de NO pelo endotélio venoso é muito baixa (VALLANCE et al, 1989). Entretanto, esta produção basal venosa pode ser aumentada em resposta à bradicinina ou outros agonistas (BEDARIDA et al, 1994). Recentemente, um estudo com culturas de células endoteliais venosas de mesentério de ratos mostrou grandes concentrações de eNOS, atividade da NOS e L-arginina intracelular quando comparadas a células endoteliais arteriais (WAGNER et al, 2001). Demonstrou-se que, apesar da concentração média de NO não ser significativamente diferente entre os tipos de vasos devido à alta variabilidade em valores absolutos, a concentração de NO no endotélio venoso foi maior que no arterial em aproximadamente 80% dos pares de vasos mesentéricos estudados em ratos (BOHLEN et al, 1998). Outros estudos sugerem que o endotélio venoso não tem a mesma capacidade de síntese de NO que o endotélio arterial. Por exemplo, *shear stress* e acetilcolina estimulam menos a liberação de NO pela veia jugular comparada a artéria carótida (FUKAYA e OHHASHI, 1996) e *shear stress* estimula menos a dilatação NO-dependente em veias coronárias que em seus pares arteriais (KUO et al, 1993).

A superior longevidade da patência dos enxertos com artéria mamária interna comparados aos de veia safena têm embasamento na função endotelial (TADJKARIMI et al, 1992; HOLT et al, 1993). Uma maior liberação basal de NO e EDHF em enxertos arteriais (LIU et al, 2000), a função endotelial intacta pela pequena manipulação e a ausência de espessamento intimal nos enxertos arteriais em comparação aos enxertos venosos (KOMORI et al, 2002), bem como a manutenção do metabolismo fisiológico de óxido nítrico e prostaciclina, ambos a curto e longo prazo após a cirurgia (YANG et al, 1991), sugerem uma maior biodisponibilidade de NO no leito arterial. No todo, estes achados sustentam o consenso crescente de que há uma marcada heterogeneidade regional e segmentar na função vascular endotelial, com a liberação de NO e/ou efeitos vasculares variando entre e dentro de específicos leitos vasculares (BOEGEHOLD, 1998).

Estudos prévios em nosso laboratório demonstraram uma reduzida vasodilatação à bradicinina em tabagistas usando a técnica da veia dorsal da mão (MORENO et al, 1998). Agora, usando o mesmo modelo, nossos resultados indicam que a administração aguda de vitamina C reverte esta resposta anormal em tabagistas. Observações clínicas têm demonstrado radicais livres de oxigênio como mediadores da disfunção endotelial em tabagistas (MORROW et al, 1995; REILLY et al, 1996). A vitamina C melhora ou reverte a disfunção endotelial, sugerindo uma ligação entre esta e a biodisponibilidade do NO, porém, somente em altas concentrações fisiológicas (JACKSON et al, 1998). Sabidamente, indivíduos tabagistas possuem níveis plasmáticos reduzidos de vitamina C (TSUCHIYA et al, 2002; SCHECTMAN et al, 1989), um potente antioxidante protetor dos lípides plasmáticos contra o stress oxidativo (FONTANA et al, 1999; SIOW et al, 1999). Isto poderia ser explicado pela depleção constante das moléculas antioxidantes naturais pelo hábito de fumar, levando ao desequilíbrio do sistema de oxidação-redução (REDOX).

A reversão da disfunção endotelial pela vitamina C já está bem demonstrada em pacientes com aterosclerose (HEITZER et al, 2001; HAMABE et al, 2001), hiperhomocisteinemia (KANANI et al, 1999; CHAMBERS et al, 1999), hipercolesterolemia (TING et al, 1997; PERTICONE et al, 2000), hipertensão arterial (TADDEI et al, 1998; SHERMAN et al, 2000) e diabete melito (TITLE et al, 2000; BECHMAN et al, 2001). Em tabagistas, a abstinência reverte a disfunção endotelial (CELERMAJER et al, 1993; MORENO et al, 1998) e reduz marcadores de stress oxidativo (MORROW et al, 1995; REILLY et al, 1996). Os mecanismos propostos para explicar a melhora da função endotelial pela vitamina C (MAY, 2000) são: 1) Prevenção da disfunção endotelial induzida pela LDL oxidada (MARTIN e FREI, 1997; SIOW et al, 1998; RUIZ et al, 2003), 2) Liberação de NO por S-nitrosotiois no plasma induzida pela vitamina C (SCORZA et al, 1997), 3) Redução de nitrito a NO (MIRVISH et al, 1972), 4) Seqüestro de radicais superóxido pela vitamina C (BENDICH et al, 1986; JACKSON et al, 1998), 5) Regulação redox tiol-dependente da eNOS: interação com vitamina C, 6) Regulação da eNOS pela tetrahydrobiopterina (UEDA et al, 2000; BAKER et al, 2001), 7) Vitamina C como cofator da eNOS, 8) Efeitos na estimulação da guanilato ciclase pelo NO (MURPHY, 1999). Muitos estudos têm dado suporte a melhora da disfunção endotelial arterial em

indivíduos tabagistas através de técnicas como: Dilatação Mediada pelo Fluxo (GAENZER et al, 2001; RAITAKARI et al, 2000), Pletismografia (McVEIGH et al, 1996; HEITZER et al, 1996), Tomografia por Emissão de Pósitrons (CAMPISI et al, 1999) e Infusões Intra-arteriais (PEPINE et al, 1998), mas não em leitos venosos.

Em conclusão, resultados conflitantes sugerem atividades biológicas diferentes entre o endotélio venoso e arterial, provavelmente por uma heterogeneidade regional e segmentar da função vascular endotelial, porém, nossos achados demonstram que no leito vascular periférico possa haver uma similaridade nesta resposta. O mecanismo preciso ainda necessita maior investigação.

### **Implicações Clínicas**

Devemos salientar que nossos resultados não podem ser extrapolados para o uso clínico da vitamina C como fator de proteção vascular em tabagistas ou em outros pacientes com diferentes fatores de risco. Além de a dose intravenosa administrada ser muito alta para a obtenção de resultados satisfatórios de reversão da disfunção endotelial e, teoricamente, doses acima de 1g/dia, aumentam muito o risco de cálculos renais, uricosúria, deficiência de vitamina B<sub>12</sub>, sobrecarga de ferro e mutagenicidade (DIPLOCK, 1995), o seu uso crônico tem mostrado resultados controversos. Pacientes com insuficiência cardíaca, após tratamento com vitamina C oral (1g/dia) durante quatro semanas demonstrou melhora no FMD de artéria radial (HORNIG et al, 1998). O uso oral combinado de vitamina C (1g/dia) e vitamina E (400UI 2X/dia) também melhorou a vasodilatação dependente do endotélio em crianças e adolescentes com hipercolesterolemia familiar (MIETUS-SNYDER et al, 1998). Dois estudos em pacientes com doença arterial coronariana que receberam 2g de vitamina C em dose única (aguda) ou 500mg/dia por 4 semanas (crônica) mostraram efeito benéfico sustentado da função endotelial em ambas as situações, avaliadas pelo FMD de artéria braquial (LEVINE et al, 1996; GOKCE et al, 1999). Porém, o uso de vitamina C (1g/dia) por 8 semanas em tabagistas, não mostrou esse benefício, apesar da manutenção dos níveis plasmáticos de vitamina C (RAITAKARI, 2000). Diferentes metodologias entre os estudos podem justificar seus resultados discrepantes, porém, uma explicação seria a redução da biodisponibilidade da vitamina C pela terapia prolongada.

Outros estudos com padronização de técnicas de avaliação da reatividade vascular associados a farmacocinética da vitamina C e a investigação de mecanismos ligados a biodisponibilidade do óxido nítrico, serão necessários para maior esclarecimento da ação da droga.



*CONCLUSÕES*

Com base em nossos achados, podemos concluir que:

1. A reatividade vascular dependente do endotélio está reduzida similarmente em tabagistas em ambos os leitos vasculares (venoso e arterial).
2. A infusão aguda de vitamina C restaura a reatividade vascular dependente do endotélio em tabagistas.



*REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS*

AELLIG W. H. A new technique for recording compliance of human hand veins. **Br J Clin Pharmacol**, 11:237-43, 1981.

BAKER T. A., MILSTIEN S., KATUSIC Z. S. Effect of vitamin C on the bioavailability of tetrahydrobiopterin in human endothelial cells. **J Cardiovasc Pharmacol**, 37(3):333-8, 2001.

BECHMAN J. A., GOLDFINE A. B., GORDON M. B., CREAGER M.A. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in humans. **Circulation**, 103:1618-23, 2001.

BEDARIDA G. V., KIM D., BLASCHKE T. F., HOFFMAN B. B. Characterization of an inhibitor of nitric oxide synthase in human hand veins. **Hormone and Metabol Res**, 26:109-12, 1994.

BENDICH A., MACHLIN L. J., SCANDURRA O., BURTON G. W., WAYNER D. M. The antioxidant role of vitamin C. **Adv Free Rad Biol Med**, 2:419-44, 1986.

BOEGEHOLD M. Heterogeneity of endothelial function within the circulation. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, 7:71-8, 1998.

BOHLEN H. G. Mechanisms of increased vessel wall nitric oxide concentrations during intestinal absorption. **Am J Physiol**, 275:542-50, 1998.

BROOKS J. E. **The Mighty Leaf: Tobacco through the centuries**. Boston: Little Brown, 1952.

CAMPISI R., CZERNIN J., SCHODER H., SAYRE J. W., SCHELBERT H. R. L-arginine normalizes coronary vasomotion in long-term smokers. **Circulation**, 99:491-7, 1999.

CELERMAJER D. S., SORENSEN K. E., GEORGAKOPOULOS D., BULL C., THOMAS O., ROBINSON J. et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. **Circulation**, 88:2149-55, 1993.

CELERMAJER D. S., ADAMS M. R., CLARKSON P., ROBINSON J., McCREDIE R., DONALD A. et al. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. **N Engl J Med**, 334:150-4, 1996.

CHAMBERS J. C., MCGREGOR A., JEAN-MARIE J., OBEID O. A., KOONER J. S. Demonstration of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia: An effect reversible with vitamin C therapy. **Circulation**, 99:1156-60, 1999.

CORRETTI M. C., ANDERSON T. J., BENJAMIN E. J., CELERMAJER D., CHARBONNEAU F., CREAGER M. A. et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. **J Am Coll Cardiol**, 39:257-65, 2002.

DACHMAN W. D., FORD G. A., BLASCHKE T. F., HOFFMAN B. B. Mechanism of bradykinin-induced venodilation in humans. **J Cardiovasc Pharmacol**, 21(2):241-8, 1993.

DIPLOCK A. T. Safety of antioxidant vitamins and beta-carotene. **Am J Clin Nutr**, 62(suppl 6):1510-6, 1995.

ECKERT S., HORSTKOTTE D. Comparison of Portapres non-invasive blood pressure measurement in the finger with intra-aortic pressure measurement during incremental bicycle exercise. **Blood Press Monit**, 7(3):179-83, 2002.

FONTANA L., McNEILL K. L., RITTER J. M., CHOWIENCZYK P. J. Effects of vitamin C and of a cell permeable superoxide dismutase mimetic on acute lipoprotein induced endothelial dysfunction in rabbit aortic rings. **Br J Pharmacol**, 126:730-4, 1999.

FORTMANN S. P. Smoking: No time for complacency. **Card Risk Factors**, 6(3):123-5, 1996.

FREI B., ENGLAND L., AMES B. N. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. **Proc Natl Acad Sci USA**, 86:6377-81, 1989.

FREI B., STOCKER R., ENGLAND L., AMES B. N. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. **Adv Exp. Med Biol**, 264:155-63, 1990.

FUKAYA Y., OHHASHI T. Acetylcholine- and flow induced production and release of nitric oxide in arterial and venous endothelial cells. **Am J Physiol**, 270:99-106, 1996.

GAENZER H., NEUMAYR G., MARSCHANG P., STURM W., KIRCHMAIR R., PATSCH J. R. Flow-mediated vasodilation of the femoral and brachial artery induced by exercise in healthy nonsmoking and smoking men. **J Am Coll Cardiol**, 38:1313-9, 2001.

GIDDING S. S., MORGAN W., PERRY C., ISABEL-JONES J. B., BRICKER J. T. Active and passive tobacco exposure: a serious pediatric health problem. A statement of the Committee on Atherosclerosis and Hypertension in children, Council on Cardiovascular Disease in the Young, American Heart Association. **Circulation**, 90(5):2581-90, 1994.

GOKCE N., KEANEY J. F., FREI B., HOLBROOK M., OLESIAK M., ZACHARIAH B. J. et al. Long-term ascorbic acid administration reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. **Circulation**, 99:3234-40, 1999.

GRASSI G., SERAVALLE G., CALHOUN D. A., BOLLA G. B., GIANNATTASIO C., MARABINI M. et al. Mechanisms responsible for sympathetic activation by cigarette smoking in humans. **Circulation**, 90(1):248-53, 1994.

GROPPELLI A., GIORGI D. M., OMBONI S., PARATI G., MANCIA G. Persistent blood pressure increase induced by heavy smoking. **J Hypertens**, 10(5):495-9, 1992.

GROSSMANN M., DOBREV D., HIMMEL H. M., RAVENS U., KIRCH W. Ascorbic acid-induced modulation of venous tone in humans. **Hypertension**, 37:949-54, 2001.

HAMABE A., TAKASE B., UEHATA A., KURITA A., OHSUZU F., TAMAI S. Impaired endothelium-dependent vasodilation in the brachial artery in variant angina pectoris and the effect of intravenous administration of vitamin c. **Am J Cardiol**, 87:1154-9, 2001.

HEITZER T., JUST H., MUNZEL T. Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. **Circulation**, 94:6-9, 1996.

HEITZER T., SCHLINZIG T., KROHN K., MEINERTZ T., MUNZEL T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. **Circulation**, 104:2673-8, 2001.

HIGMAN D., GREENHALGH R. M., POWELL J. T. Smoking impairs endothelium-dependent relaxation of saphenous vein. **Br J Surg**, 80(10):1242-5, 1993.

HIGMAN D., STRACHAN A. M. J., BUTTERY L., HICKS R. C. J., SPRINGALL D. R., GREENHALGH R. M. et al. Smoking impairs the activity of endothelial nitric oxide synthase in saphenous vein. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 16:546-52, 1996.

HOLT C. M., FRANCIS S. E., NEWBY A. C., ROGERS S., GADSDON P. A., TAYLOR T. et al. Comparison of response to injury in organ culture of human saphenous vein and internal mammary artery. **Ann Thorac Surg**, 55:1522-8, 1993.

HORNIG B., ARAKAWA N., KOHLER C., DREXLER H. Vitamin C improves endothelial function of conduit arteries in patients with chronic heart failure. **Circulation**, 97:363-8, 1998.

JACKSON T. S., XU A., VITA J. A., KEANEY J. F. Jr. Ascorbate prevents the interaction of superoxide and nitric oxide only at high physiologic concentrations. **Circ Res**, 83:916-22, 1998.

KANANI P. M., SINKEY C. A., BROWNING R. L., ALLAMAN M., KNAPP H. R., HAYNES W. G. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocysteinemia in humans. **Circulation**, 100:1161-8, 1999.

KIOWSKI W., LINDER L., STOSCHITZKY K., PTISTERER M., BURCKHARDT D., BURKART F. et al. Diminished vascular response to inhibition of endothelium-derived nitric oxide and enhanced vasoconstriction to exogenously administered endothelin-1 in clinically healthy smokers. **Circulation**, 90:27-34, 1994.

KOMORI K., INOUCHI H., KUME M., SHOJI T., FURUYAMA T. Differences in endothelial function and morphologic modulation between canine autogenous venous and arterial grafts: endothelium and intimal thickening. **Surgery**, 131:249-55, 2002.

KUO L., ARKO F., CHILIAN W. M., DAVIS M. J. Coronary venular responses to flow and pressure. **Circ Res**, 72:607-15, 1993.

LEVINE G. N., FREI B., KOULOURIS S. N., GERHARD M. D., KEANEY J. F., VITA J. A. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. **Circulation**, 93:1107-13, 1996.

LIU Z., GE Z., HE G. Difference in endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated hyperpolarization and nitric oxide release between human internal mammary artery and saphenous vein. **Circulation**, 102(suppl3):296-301, 2000.

LUSCHER T. F., DIEDERICH D., SIEBENMANN R., LEHMANN K., STULZ P., VON SEGESSER L. et al. Difference between endothelium-dependent relaxation in arterial and in venous coronary bypass grafts. **N Engl J Med**, 319:462-7, 1988.

MACKAY D. A generally useful modification of ALLFIT that facilitates the fitting of null equations to dose-response curves. **Trends Pharmacol Sci**, 9:121-2, 1988.

MARTIN A., FREI B. Both intracellular and extracellular vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cells. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 17:1583-90, 1997.

MAY J. M. How does ascorbic acid prevent endothelial dysfunction? **Free Rad Biol Med**, 28(9):1421-9, 2000.

MAYS B. W., FREISCHLAG J.A., EGINTON M. T., CAMBRIA R.A., SEABROOK G. R., TOWNE J. B. Ascorbic acid prevents cigarette smoke injury to endothelium-dependent arterial relaxation. **J Surg Res**, 84:35-9, 1999.

McVEIGH G. E., LEMAY L., MORGAN D., COHN J. N. Effects of long-term cigarette smoking on endothelium-dependent responses in humans. **Am J Cardiol**, 78:668-72, 1996.

MIETUS-SNYDER M., MALLOY M. J. Endothelial dysfunction occurs in children with two genetic hyperlipidemias: improvement with antioxidant vitamin therapy. **J Pediatr**, 133:35-40, 1998.

MIRVISH S. S., WALLCAVE L., EAGEN M., SHUBIK P. Ascorbate-nitrite reaction: possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compounds. **Science**, 177:65-8, 1972.

MORENO Jr H., CHALON S., URAE A., TANGPHAO O., ABIOSE A. K, HOFFMAN B. B. Endothelial dysfunction in human hand veins is rapidly reversible after smoking cessation. **Am J Physiol**, 275:1040-5, 1998.

MORROW J. D., FREI B., LONGMIRE A. W., GAZIANO J. M., LYNCH S. M., SHYR Y. et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F<sub>2</sub>-isoprostanes) in smokers. **N Engl J Med**, 332:1198-203, 1995.

MOTOYAMA T., KAWANO H., KUGIYAMA K., HIRASHIMA O., OHGUSHI M., YOSHIMURA M. et al. Endothelium-dependent vasodilation in the brachial artery is impaired in smokers: effect of vitamin C. **Am J Physiol**, 273:1644-50, 1997.

MURPHY M. E. Ascorbate and dehydroascorbate modulate nitric oxide-induced vasodilations of rat coronary arteries. **J Cardiovasc Pharmacol**, 34:295-303, 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Environmental tobacco smoke: measuring exposure and assessing health effects**. Washington DC: National Academy Press, 1986.

NEUNTEUFL T., HEHER S., KOSTNER K., MITULOVIC G., LEHR S., KHOSCHSORUR G. et al. Contribution of nicotine to acute endothelial dysfunction in long-term smokers. **J Am Coll Cardiol**, 39:251-6, 2002.

NODE K., KITAKAZE M., YOSHIKAWA H. Reversible reduction in plasma concentration of nitric oxide induced by cigarette smoking in Young adults. **Am J Cardiol**, 79:1538-41, 1997.

PEPINE C. J., SCHLAIFER J. D., MANCINI G. B. J., PITT B., O'NEILL B. J., HABER H. E. Influence of smoking status on progression of endothelial dysfunction. **Clin Cardiol**, 21:331-4, 1998.

PERTICONE F., CERAVOLO R., MAIO R., CLORO C., CANDIGLIOTA M., SCOZZAFAVA A. et al. Effects of atorvastatin and vitamin C on endothelial function of hypercholesterolemic patients. **Atherosclerosis**, 152:511-8, 2000.

RAITAKARI O. T., ADAMS R. A., McCREDIE R. J., GRIFFITHS K. A., STOCKER R., CELERMAJER D. S. Oral vitamin C and endothelial function in smokers: short-term improvement, but no sustained beneficial effect. **J Am Coll Cardiol**, 35:1616-21, 2000.

RANG H. P., DALE M. M., RITTER J. M. **Pharmacology**. New York: 3<sup>rd</sup> ed. Churchill Livingstone Inc, 1996.

REILLY M., DELANTY N., LAWSON J. A., FITZGERALD G. A. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. **Circulation**, 94:19-25, 1996.

REPACE J. L. Indoor concentrations of environmental tobacco smoke: field survey. In: O'NEILL I. K., BRUNNEMANN K. D., DODET B., HOFFMAN D. **Environmental carcinogens. Methods of analysis and exposure measurement**. Lyon: IARC Scientific Publications, 1987. p. 141-159.

REPORT OF THE SURGEON GENERAL. **The Health benefits of smoking cessation**. Washington DC: US Department of Health and Human Services, Office I Smoking and Health, 1990. p. 191-7.

RUIZ E., SIOW R. C. M., BARTLETT S. R., JENNER A. M., SATO H., BANNAI S. et al. Vitamin C inhibits diethylmaleate-induced L-cystine transport in human vascular smooth muscle cells. **Free Rad Biol Med**, 34(1):103-10, 2003.

SABHA M., TANUS-SANTOS J. E., YUGAR-TOLEDO J. C., CITTADINO M., ROCHA J. C., MORENO Jr H. Transdermal nicotine mimics the smoking-induced endothelial dysfunction. **Clin Pharmacol Ther**, 68:167-74, 2000.

SALVEMINI D., BOTTING R. Modulation of platelet function by free radicals and free-radical scavengers. **Trends Pharmacol Sci**, 14:36-42, 1993.

SCHECTMAN G., BYRD J. C., GRUCHOW H. W. The influence of smoking on vitamin C status in adults. **Am J Public Health**, 79:158-62, 1989.

SCHMIDT T. F., WITTENHAUS J., STEINMETZ T. F., PICCOLO P., LUPSEN H. Twenty-four-hour ambulatory noninvasive continuous finger blood pressure measurement with PORTAPRES: a new tool in cardiovascular research. **J Cardiovasc Pharmacol**, 19(suppl 6):117-45, 1992.

SCORZA G., PIETRAFORTE D., MINETTI M. Role of Ascorbate and protein thiols in the release of nitric oxide from S-nitrosoalbumin and S-nitroso-gluthathione in human plasma. **Free Rad Biol Med**, 22:633-42, 1997.

SHERMAN D. L., KEANEY J. F., BIEGELSEN E. S., DUFFY S. J., COFFMAN J. D., VITA J. A. Pharmacological concentrations of ascorbic acid are required for the beneficial effect on endothelial vasomotor function in hypertension. **Hypertension**, 35:936-41, 2000.

SIOW R. C. M., SATO H., LEAKE D. S., PEARSON J. D., BANNAI S., MANN G. E. Vitamin C protects human arterial smooth muscle cells against atherogenic lipoproteins. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 18:1662-70, 1998.

SIOW R. C. M., RICHARDS J. P., PEDLEY K. C., LEAKE D. S., MANN G. E. Vitamin C protects human vascular smooth muscle cells against apoptosis induced by moderately oxidized LDL containing high levels of lipid hydroperoxides. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 19:2387-94, 1999.

SLADE J. The tobacco epidemic: lessons from history. **J Psychoactive Drugs**, 312:384-8, 1992.

STEINBERG D. Antioxidants and atherosclerosis. **Circulation**, 84:1420-5, 1991.

TADDEI S., VIRDIS A., GHIADONI L., MAGAGNA A., SALVETTI A. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. **Circulation**, 97:2222-9, 1998.

TADJKARIMI S., O'NEIL G. S., LUU T. N., ALLEN S. P., SCHYNS C. J., CHESTER A. H. et al. Comparison of cyclic GMP in human internal mammary and saphenous vein: implications for coronary artery bypass graft patency. **Cardiovasc Res**, 26:297-300, 1992.

TAYLOR A. E., JOHNSON D. C., KAZEMI H. Environmental tobacco smoke and cardiovascular disease: a position paper from the Council on Cardiopulmonary and Critical Care, American Heart Association. **Circulation**, 86(2):699-702, 1992.

TING H. H., TIMIMI F. K., HALEY E. A., RODDY M., GANZ P., CREAGER M. A. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans with hypercholesterolemia. **Circulation**, 95:2617-22, 1997.

TITLE L. M., CUMMINGS P. M., GIDDENS K., NASSAR B. A. Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. **J Am Coll Cardiol**, 36:2185-91, 2000.

TSUCHIYA M., ASADA A., KASAHARA E., SATO E. F., SHINDO M., INOUE M. Smoking a single cigarette rapidly reduces combined concentrations of nitrate and nitrite and concentrations of antioxidants in plasma. **Circulation**, 105:1155-7, 2002.

UEDA S., MATSUOKA M., MIYAZAKI H., USUI M., OKUDA S., IMAIZUMI T. Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in long-term smokers. **J Am Coll Cardiol**, 35:71-5, 2000.

VALLANCE P., COLLIER J., MONCADA S. Nitric oxide synthesized from L-arginine mediates endothelium dependent dilatation in human veins in vivo. **Cardiovasc Res**, 23:1053-7, 1989.

WAGNER L., HOEY J. G., ERDELY A., BOEGEHOLD M. A., BAYLIS C. The nitric oxide pathway is amplified in venular vs arteriolar cultured rat mesenteric endothelial cells. **Microvasc Res**, 62:401-9, 2001.

WOO K. S., CHOOK P., LEONG H. C., HUANG X. S., CELERMAJER D. S. The impact of heavy passive smoking on arterial endothelial function in modernized chinese. **J Am Coll Cardiol**, 36:1228-32, 2000.

YANG Z. H., VON SEGESSER L., BAUER E., STULZ P., TURINA M., LUSCHER T. F. Different activation of endothelial L-arginine and cyclooxygenase pathway in human internal mammary artery and saphenous vein. **Circ Res**, 68:52-60, 1991.



***ANEXOS***



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

✉ Caixa Postal 6111  
13083-970 Campinas-S.P.

☎ 0 19 7888936

fax 0 19 7888925

✉ [cep@head.fcm.unicamp.br](mailto:cep@head.fcm.unicamp.br)

CEP, 14/08/01  
(Grupo III)

**PARECER PROJETO: N° 147/2001**

### **I-IDENTIFICAÇÃO:**

**PROJETO: “EFEITOS AGUDOS DA ADMINISTRAÇÃO DE VITAMINA C NA REATIVIDADE VASCULAR ARTERIAL E VENOSA EM TABAGISTAS”**

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Heitor Moreno Júnior

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Farmacologia Vascular/Departamento de Farmacologia/FCM/UNICAMP – Instituto de Cardiologia Rio Preto/São José do Rio Preto-SP

**APRESENTAÇÃO AO CEP:** 11/07/2001

### **II - OBJETIVOS**

Avaliação dos efeitos da vitamina C aguda na disfunção vascular nos leitos venoso e arterial em tabagistas. Quantificação e correlacionamento dos marcadores circulantes de Stress oxidativo com o seu da vitamina C intravenosa e sua interferência na biodisponibilidade de óxido nítrico.

### **III - SUMÁRIO**

Serão colhidos 40 ml de sangue para exames variados, sendo que no máximo durante o período total (24 meses) poderá ser colhido 120 ml de sangue. Através de veia periférica serão introduzidos vitamina C com solução salina, fenilefrina e bradicinina (somente com efeito local). Por via sublingual será ministrada a nitroglicerina. Todos os pacientes serão monitorizados durante o procedimento. Os procedimentos serão desenvolvidos em ambiente hospitalar. Os voluntários receberão auxílio de R\$30,00.

### **IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES**

O termo de consentimento livre e esclarecido é adequado. O referido estudo preenche os requisitos da Resolução 196/96 CNS-MS.

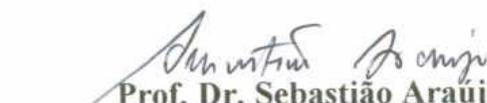
Projeto APROVADO

## V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

## VI - DATA DA REUNIÃO

Homologado na VIII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 14 de agosto de 2001.

  
**Prof. Dr. Sebastião Araújo**  
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP

## ANEXO II – Ficha clínica

“EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA C NA REATIVIDADE VASCULAR ARTERIAL E VENOSA EM TABAGISTAS”

### ANEXO II - FICHA CLÍNICA

DATA : \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Cadastro: \_\_\_\_\_

PESO: \_\_\_\_\_ Kg

ALTURA: \_\_\_\_\_ cm

IMC: \_\_\_\_\_

1.Nome: \_\_\_\_\_ 2.Registro: \_\_\_\_\_

3.Endereço: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_ Tel.: \_\_\_\_\_

4.Idade: \_\_\_\_\_ 4a. Data de Nascimento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

5. Sexo: (a) masc (b) fem

6.Raça: (a) branca (b) negra (c) amarela (d) parda

7. Profissão: \_\_\_\_\_ ( se aposentado, há quanto tempo? \_\_\_\_\_ anos)  
Se ainda trabalha, qual atividade?

8. Escolaridade: (a) primário (b) 1ºGrau (c) 2ºGrau (d) 3ºGrau (e) Pós-graduação

9. Há quanto tempo sabe ser hipertenso? \_\_\_\_\_ anos

10. Faz uso de bebida alcoólica regularmente? (a) não (b) sim

10a. Que tipo? (a) destilada (pinga,uísque) (b) fermentada(cerveja) (c) vinho (d)conhaque

10b. Regularidade? (a) todo dia (b) 5x /semana (c)4x/sem (d)3x/sem (e)fim de semana

10c. Quantidade? \_\_\_\_\_

11. Fuma? (a) nunca fumou (b) ainda fuma (c) parou de fumar

12. Que tipo? (a) cigarro comum (b) cigarro de palha (c) cachimbo

11a. Com filtro? (a) sim (b) não

13. Se ainda fuma... (a) 0 a 10 cig/dia (d) 30 a 40 cig/dia  
(b) 10 a 20 cig/dia (e) mais de 40 cig/dia  
(c) 20 a 30 cig/dia

14. Parou-se de fumar, há quanto tempo? \_\_\_\_\_ meses

14a. Tem familiares fumantes no convívio diário (more na mesma casa)? (a)sim (b)não

15. Quanto fumava? Siga classificação acima: ( )

16. É Diabético? (a) sim (b) não

17. Há quanto tempo é diabético? \_\_\_\_\_ meses

18. Que remédio usa? (a) Diabinese, Daonil ( outro: \_\_\_\_\_ )  
(b) Glifage, Glucoformin ( outro: \_\_\_\_\_ )  
(c) Glucobay

19. Quantos comprimidos/dia? \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ cps ( \_\_\_\_\_ mg)  
\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ cps ( \_\_\_\_\_ mg)

20. Há quanto tempo toma remédio? \_\_\_\_\_ meses

21. Se insulina, quantas unidades/dia? \_\_\_\_\_ U

22. Há quanto tempo vem tomando insulina? \_\_\_\_\_ meses

23. Tem colesterol ou triglicérides alto? (a) sim (b) não

Níveis ( data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ ): # Colesterol Total: \_\_\_\_\_ mg/dl  
# Triglicérides: \_\_\_\_\_ mg/dl  
# HDL: \_\_\_\_\_ mg/dl  
# LDL: \_\_\_\_\_ mg/dl  
# VLDL: \_\_\_\_\_ mg/dl  
# Glicemia de jejum: \_\_\_\_\_ mg/dl  
# Creatinina: \_\_\_\_\_ mg/dl

24. Faz alguma dieta? (a) não  
(b) sim, para emagrecer  
(c) sim, como menos gordura  
(d) sim, para o diabetes  
(e) sim, como com pouco sal

25. Está tomando remédio para pressão? (a) sim (b) não  
Se sim, quais?

\_\_\_\_\_ dose \_\_\_\_\_ mg \_\_\_\_\_ cps/dia

26. Quais remédios já tomou?

\_\_\_\_\_ dose \_\_\_\_\_ mg \_\_\_\_\_ cps/dia

27. Cirurgias prévias: \_\_\_\_\_ Qto tempo? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ Qto tempo? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_ Qto tempo? \_\_\_\_\_

28. Quantas gestações? \_\_\_\_\_ Datas (anos) \_\_\_\_\_  
28a. Abortos? \_\_\_\_\_  
28b. Teve pressão alta durante a gravidez? (a) sim (b) não  
28c. Passou a ter pressão alta logo após a gravidez? (a) sim (b) não

29. Antecedentes familiares: (a) HAS (quem: \_\_\_\_\_)  
(b) DM (quem: \_\_\_\_\_)  
(c) Dislipidemia ( \_\_\_\_\_)  
(d) IAM (quem: \_\_\_\_\_)  
(e) AVC (quem: \_\_\_\_\_)  
(f) RM (quem: \_\_\_\_\_)  
(g) Morte súbita (quem: \_\_\_\_\_)

**EXAME FÍSICO**

30. Geral: \_\_\_\_\_

31. Circunferência do Braço: \_\_\_\_\_ cm Antebraço: \_\_\_\_\_ cm

32. P.A.: a. Sentado ( \_\_\_\_\_ ) : \_\_\_\_\_ X \_\_\_\_\_ mmhg ( FC: \_\_\_\_\_ bpm)  
b. Sentado ( \_\_\_\_\_ ) : \_\_\_\_\_ X \_\_\_\_\_ mmhg ( FC: \_\_\_\_\_ bpm)  
c. Em pé ( \_\_\_\_\_ ) : \_\_\_\_\_ X \_\_\_\_\_ mmhg ( FC: \_\_\_\_\_ bpm)  
d. \_\_\_\_\_ ( \_\_\_\_\_ ) : \_\_\_\_\_ X \_\_\_\_\_ mmhg

33. Cabeça/pescoço: Sopros Carotídeo: (a) sim (b) não

34. Ap. resp.: \_\_\_\_\_

35. Ap. card-vasc.: \_\_\_\_\_

36. Abdome: \_\_\_\_\_

37. Neuro: \_\_\_\_\_

38. Ext/s: \_\_\_\_\_

OBS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## **ANEXO III – Consentimento informado**

*“EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA C NA REATIVIDADE VASCULAR ARTERIAL E VENOSA EM TABAGISTAS”*

### **ANEXO III**

#### **CARTA DOS DIREITOS DO VOLUNTÁRIO EM PESQUISA MÉDICA**

Os indivíduos que participam em pesquisa médica adquirem certos direitos. Estes direitos incluem:

a) Informações e explicações a respeito:

- Dos procedimentos, aparelhos e drogas a serem utilizados;
- Da natureza e proposta da pesquisa;
- De possíveis desconfortos e riscos que possam possivelmente ocorrer ou estarem sujeitos;
- De possíveis benefícios advindos da pesquisa;
- Outras alternativas de tratamento que possam lhe ser vantajosas;
- Da evolução da pesquisa e dos resultados referentes a si próprio;

b) Encaminhamento a tratamento médico caso complicações ocorram;

c) Fazer questões a respeito dos experimentos ou procedimentos envolvidos;

d) Ser instruído de que o consentimento para participar do estudo pode ser retirado a qualquer momento, inclusive sem justificativas, sem prejuízo do tratamento/seguimento do voluntário por parte da instituição de saúde.

e) Receber uma cópia deste consentimento datada e assinada pelo pesquisador responsável ou seus auxiliares autorizados para tal;

f) Consentir ou não em participar do estudo sem qualquer coerção ou outro tipo de influência por parte de elementos envolvidos na pesquisa.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do voluntário

\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do investigador ou testemunha

\_\_\_\_\_  
Data

**“EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA C NA REATIVIDADE VASCULAR ARTERIAL E VENOSA EM TABAGISTAS”**

Você está convidado a participar de um estudo sobre como se comporta o calibre da artéria de seu braço e da veia da sua mão durante a infusão de vitamina c intravenosa. nós estudaremos a resposta dos vasos sanguíneos em tabagistas e não tabagistas. se você decidir participar do estudo, o Dr. Heitor Moreno Jr. ou outros médicos da equipe (Dr. Juan Carlos Yugar Toledo e Dr. Márcio Gonçalves de Sousa) descreverão detalhadamente o estudo a você.

Cada estudo dura em média 3 horas e você permanecerá deitado no leito com os braços confortavelmente apoiados em suportes de espuma. Em uma veia do dorso de sua mão será introduzida uma pequena agulha (do tipo escalpe nº 19), onde será infundida a vitamina C com solução salina durante o período do estudo. Um transdutor de ultra-sonografia será colocado na superfície externa do braço e outro transdutor na forma de um pequeno tripé metálico sobre o dorso da mão. Serão realizadas várias medidas do calibre da veia e da artéria. Quatro drogas serão usadas além da vitamina C: a fenilefrina, que reduz o calibre da veia, a bradicinina, que dilata a veia (ambas somente com efeito local), nitroprussiato de sódio e nitroglicerina que podem causar dor de cabeça, tonturas e raramente queda da pressão arterial. O procedimento é praticamente isento de riscos, mesmo assim, pressão arterial e frequência cardíaca, além da monitorização eletrocardiográfica serão realizadas durante todo o procedimento.

Amostras de sangue (20 ml cada; total por estudo=40 ml) para dosagem de substâncias oxidantes serão coletadas durante o estudo. Se repetido o exame, o volume total de sangue a ser coletado durante o período total de estudo não será superior a 120 ml. Este estudo poderá resultar em uma melhor compreensão dos efeitos desta vitamina sobre os vasos sanguíneos em tabagistas.

**NÓS NÃO PODEMOS E NÃO GARANTIREMOS QUE VOCÊ RECEBERÁ QUALQUER BENEFÍCIO DIRETO DESTA ESTUDO.**

\_\_\_\_\_  
Assinatura do voluntário

\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do investigador ou testemunha

\_\_\_\_\_  
Data

**“EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE VITAMINA C NA REATIVIDADE VASCULAR ARTERIAL E VENOSA EM TABAGISTAS”**

Qualquer dado que possa ser publicado posteriormente em revistas científicas não revelará sua identidade, entretanto, órgãos governamentais ligados à saúde podem solicitar informações a respeito da pesquisa e a identidade dos voluntários envolvidos nela.

Você receberá ao término de cada estudo a quantia de R\$ 30.00 (trinta reais) por estudo. Para estudos adicionais, se necessários, você também receberá a quantia de R\$ 30.00 (trinta reais).

Qualquer questão a respeito do estudo ou de sua saúde deve ser dirigida ao Dr. Heitor Moreno Júnior (telefone 19-37887185, ramal 228; residencial 19-32060442), do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP; teremos satisfação em esclarecê-la. O telefone da Comissão de Ética em Pesquisa da FCM/UNICAMP é 19-32898656.

Todos os tipos de tratamento ou diagnóstico médico, experimental ou não, envolvem algum risco de prejuízo à saúde. O estudo será realizado em ambiente hospitalar (Instituto Rio Preto – São José do Rio Preto), portanto com os recursos disponíveis para atendimento de possíveis emergências. Apesar de todas as precauções, complicações podem ocorrer decorrentes de sua participação no estudo. Neste caso, você será encaminhado para assistência médica adequada.

**A SUA ASSINATURA EM CADA PÁGINA DESTA DOCUMENTO SIGNIFICA QUE: VOCÊ LEU E ENTENDEU AS INFORMAÇÕES ACIMA; VOCÊ DISCUTIU O ESTUDO COM O INVESTIGADOR PRINCIPAL E/OU SUA EQUIPE; VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DO ESTUDO COM BASE NAS INFORMAÇÕES FORNECIDAS; UMA CÓPIA DESTA CONSENTIMENTO FOI DADA A VOCÊ.**

---

Assinatura do voluntário

---

Data

---

Assinatura do investigador ou testemunha

---

Data