

Cotina urinária: tabagismo e a interpretação de resultados toxicológicos

Larissa de M. Cavalcante^{1,2}, Ana P. S. Macedo¹, Letícia S. B. Pereira^{1,2}, Beatriz C. S. da Cruz^{1,3}; Vanessa E. Dabkiewicz¹, Márcia S. de Almeida¹, Liliane R. Teixeira¹, Thelma Pavesi¹

1–Centro de Estudo da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH), Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

2- Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

3- Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Palavras-Chave: tabagismo, fator de confundimento, exposição a benzeno.

Introdução

O tabagismo é uma grave questão de saúde pública e causa milhões de mortes anualmente tanto no Brasil quanto no mundo, causando uma variedade de doenças, incluindo o câncer de pulmão e doenças cardiovasculares. Tornando-se crucial implementar medidas mais efetivas para combater o tabagismo no Brasil, baseadas em estudos epidemiológicos que orientem a criação de programas dinâmicos e promovam a conscientização da população sobre os riscos do tabaco. Do ponto de vista toxicológico, o tabagismo também pode contribuir como fator de confundimento na interpretação de resultados de metabólitos de xenobióticos. A fumaça do cigarro contém 80 componentes reconhecidos como cancerígenos, incluindo hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) e compostos orgânicos voláteis (COVs), como o benzeno, a acroleína e a nicotina.

A planta *Nicotiana tabacum*, da qual provém do tabaco, tem suas folhas utilizadas na produção de diversos produtos contendo nicotina como princípio ativo, ocasionando dependência. A nicotina, responsável pela dependência, está presente em tecidos e fluidos biológicos dos fumantes. Diversos metabólitos são gerados pela nicotina, sendo a cotinina considerada a mais eficaz para avaliar a exposição ao tabaco no organismo humano, detectável em fluidos corporais por técnicas analíticas como a cromatografia.

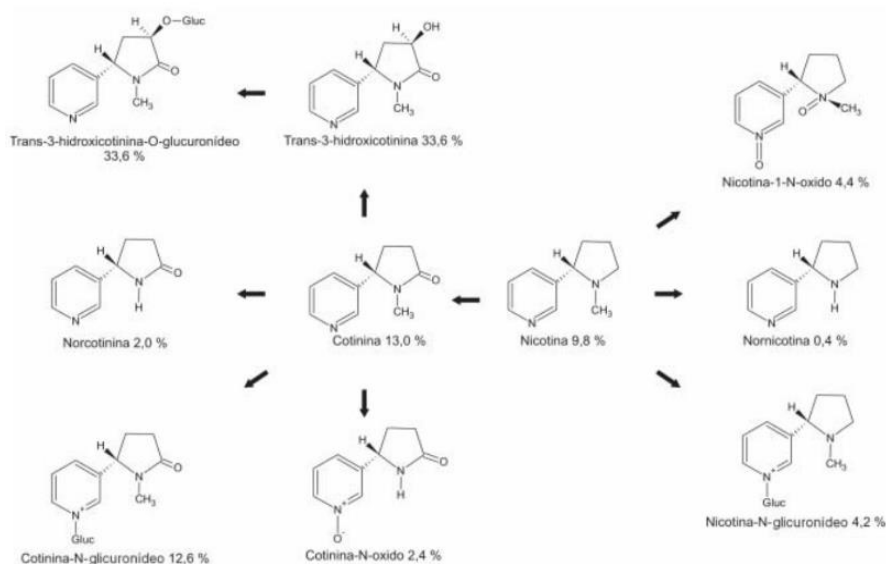
O tabagismo é uma doença que contribui para o desenvolvimento dos seguintes tipos de câncer: leucemia mieloide aguda; câncer de bexiga; câncer de pâncreas; câncer de fígado; câncer do colo do útero; câncer de esôfago; câncer de rim e ureter; câncer de laringe (cordas vocais); câncer na cavidade oral (boca); câncer de faringe (pescoço); câncer de estômago; câncer de cólon e reto; câncer de traqueia, brônquios e pulmão (INCA apud WHO, 2022).

Devido à associação do tabagismo com uma série de desfechos em saúde, o status tabágico precisa ser avaliado em estudos epidemiológicos a fim de controlar este fator de confusão. A avaliação por questionários está sujeita a falta de acurácia, devido a fatores como viés de recordação, erros de preenchimento e mesmo omissão da verdade pelo participante, seja por qualquer razão. Além da aplicação de questionários, a medição de cotinina em urina (principal metabólito da nicotina), figura 1, tem sido utilizada para confirmação do tabagismo.

Nos estudos que avaliam a associação entre a exposição a substâncias químicas e diversas comorbidades, devem ser considerados aspectos que possam estar casualmente relacionados ao desfecho, distorcendo a associação real. Isto é imperativo quando se avalia a exposição a alguma substância que também é absorvida pelo tabagista. Esses aspectos são denominados fatores de confusão, ou fatores confundidores e, entre os mais conhecidos estão sexo, aspectos socioeconômicos, tabagismo, consumo de álcool, entre outros.

Esta revisão tem como objetivo aprofundar o conhecimento sobre questões toxicológicas e analíticas relacionadas ao tabaco, bem como examinar biomarcadores relevantes aos estudos sobre o uso de substâncias e problemas de saúde associados.

Figura 1 - Esquema de metabolização da nicotina



Fonte: Malafatti et al., 2009

Considerando a implementação do programa MPOWER em 2007 e a associação do tabagismo ao desenvolvimento de câncer, especificamente câncer de traqueia, brônquios e pulmões, realizou-se uma análise temporal da taxa de mortalidade por essas doenças para avaliar o impacto das intervenções do referido programa.

Material e Métodos

Através do Portal Periódicos CAPES e sua lista de bases e coleções, foi acessado o PubMed Central: PMC, onde, em uma busca avançada, procurou-se por descritores que pudessem auxiliar na coleta dos artigos norteadores com fins na preparação do presente relatório. Nessa perspectiva, como critério de seleção dos mesmos, foi levado em consideração itens, como o período de publicação, o idioma expresso e descritores. Portanto, designou-se como período os últimos 10 anos (2014 - 2024) e como idioma, o inglês, e descritores, os seguintes termos “cotinine”; “biomarker”; “urine”; “chromatography”; “quantification”; e “determination”; “smoking”; “impact”; “health”. Eventualmente, foram visualizados artigos

citados como referência nos artigos encontrados nessa busca. Outrossim, logrou-se de outras fontes - aquém de artigos -, que, porém, são importantes fornecedores de informações sobre a questão do tabagismo, como uma publicação sobre tabagismo do Instituto Nacional de Câncer de 2022, ambos no site GOV do Ministério da Saúde.

Resultados e Discussão

Como resultado da busca bibliográfica foram lidos 27 artigos na íntegra.

A nicotina, como mencionado, é responsável pela dependência ao tabaco. No entanto, em termos toxicológicos, a meia-vida da nicotina é de aproximadamente 3 horas, o que dificulta sua detecção e análise para determinar a exposição ao cigarro nos indivíduos. Assim, existem estudos que validam a cotinina — um metabólito da nicotina, figura 1 — como um biomarcador eficaz para identificar fumantes, sejam eles ativos ou passivos, pois sua meia-vida tem duração de 18 horas a 20 horas (Ko K et al, 2016).

Além disso, a cotinina urinária é tão eficaz quanto a sérica para identificar exposição ao cigarro, como comprovado em um estudo de caso e controle pareado por tabagismo no estudo de coorte prospectivo de 18.244 homens em Xangai, China, inscritos entre 1986 e 1989, com idades entre 45 e 64 anos. Observou-se uma correlação entre os níveis de cotinina sérica e urinária e o consumo de cigarros, indicando que elevados níveis de cotinina estão associados a um maior risco de câncer de pulmão. Destaca-se que ambos os métodos de coleta são eficazes na determinação do tabagismo. No entanto, em relação ao método de coleta da cotinina sérica, a u-cotinina é considerada menos invasiva, tornando-a a opção preferencial para a análise da exposição ao tabaco (THOMAS, 2020).

Enfrentar o tabagismo é um desafio complexo, pois está enraizado em questões culturais e comportamentais. Assim, mudar essa realidade exigirá um compromisso contínuo dos órgãos públicos. É necessário intensificar o apoio e aprimorar os sistemas de saúde para atender às necessidades das pessoas afetadas pelo tabagismo diariamente. Essa abordagem é essencial para efetivamente combater esse problema de saúde pública e melhorar o bem-estar da sociedade como um todo.

Estudos populacionais, como o *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), além do questionário aplicado, também fazem uso da medição de cotinina urinária como forma de avaliar o hábito tabágico.

Com relação a metodologia analítica, foram verificados 13 relatos, sendo dois pela técnica de cromatografia gasosa após derivatização e os demais por cromatografia líquida com diferentes detectores.

Todos os artigos visualizados utilizaram a mesma preparação para a amostra que consistiu em 200 μL de padrão interno (2-fenilimidazol $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) na urina, extração da cotinina presente com 4 mL de diclorometano, seguido por secagem em fluxo de nitrogênio, reconstituição com 200 μL do eluente, utilizando como referência o Ceppa F et al. (2000) e Cattaneo et al. (2006).

Diante das especificações encontradas na literatura e considerando questões de recursos do laboratório de toxicologia onde a aluna está inserida juntamente com a equipe, foi decidido que será utilizado como referência o método de Ceppa F. et al, 2000 com cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV que está disponível no laboratório e que também é mais econômico comparado aos outros métodos de análise visualizados.

Conclusões

Avaliar o tabagismo pela cotinina permite estimar a concentração de nicotina absorvida, relacionando o grau/nível de concentração com o desfecho em saúde é uma abordagem que pode melhorar as avaliações de exposição ao tabaco, ativo e passivo, especialmente em populações mais susceptíveis, como grávidas, trabalhadores expostos a substâncias tóxicas, crianças / jovens, portadores de doenças crônicas, entre outros.

A revisão bibliográfica da metodologia analítica demonstra uma preparação de amostra padronizada para análise de cotinina na urina. A escolha do método considera a disponibilidade e economia dos recursos do laboratório. Enfatiza-se, portanto, a importância de otimizar metodologias econômicas para identificar a exposição ao tabaco, visando facilitar o diagnóstico precoce de doenças relacionadas ao tabagismo e melhorar a qualidade de vida da população.

Agradecimentos

Ana Macedo agradece a CAPES Brasil (Código de Financiamento 001); Letícia Pereira e Larissa Cavalcante agradecem ao CNPq, projeto ENSP-024-Fio-21-2-2e e ao Programa de Iniciação Científica da Fiocruz (Pibic – Fiocruz).

Referências

Cattaneo, R, Alegretti, A.P, Sagebin, F.R, Abreu, C.M, Petersen, G.O, Chatkin, J.M, 2006. Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of cotinine in urine. Rev. Bras. Toxicol. 19, 25-3.

Ceppa F, El Jahiri Y, Mayaudon H, Dupuy O, Burnat P. High-performance liquid chromatographic determination of cotinine in urine in isocratic mode. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 2000 Sep 15;746(2):115-22. doi: 10.1016/s0378-4347(00)00306-6. PMID: 11076063.

INCA, Instituto Nacional de Câncer -. Prevalência do tabagismo: página com informações estatísticas da prevalência do tabagismo no brasil. S.I: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em:<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/observatorio-da-politica-nacional-de-controle-do-tabaco/dados-e-numeros-do-tabagismo/prevalencia-do-tabagismo>. Acesso em: 13 fev. 2024.



INCA, Instituto Nacional de Câncer -. Tabagismo: página com informações estatísticas de tabagismo. S.I: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/causas-e-prevencao-do-cancer/tabagismo>. Acesso em: 13 fev. 2024.

Sharma P, Sane N, Anand SD, Marimutthu P, Benegal V. Assessment of cotinine in urine and saliva of smokers, passive smokers, and nonsmokers: Method validation using liquid chromatography and mass spectrometry. *Indian J Psychiatry*. 2019 May-Jun;61(3):270-276. doi: 10.4103/psychiatry.IndianJPsychiatry_61_18. PMID: 31142905; PMCID: PMC6532461.

VASCONCELLOS, Diego da Silva. Determinação de cotinina urinária por HPLC-UV para avaliação da exposição de pacientes asmáticos ao tabagismo. 2016. 80 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, 2016.

Ko K, Kwon MJ, Yang SH, Moon CJ, Lee EH, Woo HY, Park H. Evaluation of Serum Cotinine Cut-Off to Distinguish Smokers From Nonsmokers in the Korean Population. *Ann Lab Med*. 2016 Sep;36(5):427-33. doi: 10.3343/alm.2016.36.5.427. PMID: 27374707; PMCID: PMC4940485.