

Influência do fumo na atividade da amilase salivar e na curva glicêmica

Influence of smoking on salivary amylase activity and glycemic curve

Patricia MORIEL¹
Hermes Lima MADUREIRA²
Áurea Kátia Yuuko UWAGOYA²
Luana WLIAN²
Eder de Carvalho PINCINATO³

RESUMO

Objetivo

Determinar a atividade da amilase salivar e a relação com a glicemia, antes e após a ingestão de carboidratos em fumantes e não fumantes, uma vez que *in vitro* a exposição da saliva à fumaça do cigarro induz à redução da atividade da amilase salivar e poderia influenciar na absorção dos carboidratos da dieta.

Métodos

Foram avaliados voluntários fumantes (n=10) e não fumantes (n=10). Realizou-se coletas da saliva antes e após o fumo e determinou-se a glicemia antes e após a ingestão de 72g de carboidratos. Para glicemia usaram-se tempos de 0, 15, 30, 60, 120 minutos. A determinação da atividade da amilase salivar foi realizada por meio de *kits* comerciais. A glicemia foi determinada utilizando o aparelho Glicomiter (Accu-Chek-Roche). As análises estatísticas foram realizadas no *software* *Sigmastat*, utilizou-se o método Teste *t* pareado ($p < 0,05$).

Resultados

O aumento da glicemia aos 15, 30, 60 e 90 minutos foi de 3,9; 11,9; 34,8 e 22,7% para os não fumantes e 4,9; 6,5; 13,8 e 9,7% para os fumantes, respectivamente. No pico máximo de absorção tem-se uma glicemia de 21,0 % maior nos pacientes não fumantes. A atividade da amilase salivar antes e após alimentação apresentou-se 75,0% menor nos indivíduos fumantes.

Conclusão

Estes resultados sugerem que o fumo inibe a amilase e influencia na diminuição da digestão/absorção de carboidratos, consequentemente na concentração de glicose sanguínea, reduzindo assim o aporte energético ingerido.

Termos de indexação: Alfa-amilases salivares. Glicemia. Processos do sistema digestório. Tabaco.

¹ Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Departamento de Patologia Clínica. R. Tessália Vieira de Camargo, 126, 13081-970, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: P. MORIEL. E-mail: <morielpa@fcm.unicamp.br>.

² Universidade Camilo Castelo Branco. São Paulo, SP, Brasil.

³ Universidade Presbiteriana Mackenzie. São Paulo, SP, Brasil.

ABSTRACT

Objective

The objective of this study was to determine salivary amylase activity and its relationship with glycemia before and after smokers and nonsmokers ingested carbohydrates. Since cigarette smoke reduces salivary amylase activity in vitro, it may affect dietary carbohydrate absorption.

Methods

Twenty volunteers participated in this study, 10 smokers and 10 nonsmokers. Samples of saliva were collected before and after the smokers had a cigarette and glycemia was determined before and after the ingestion of 72g of carbohydrates. Glycemia was measured 0, 15, 30, 60 and 120 minutes after carbohydrate intake. Salivary amylase activity was determined by commercial kits. Glycemia was determined by a glucometer (Accu-Chek-Roche). The paired t-test was used for the statistical analyses, done by the software Sigmasat, with $p < 0.05$.

Results

Glycemia 15, 30, 60 and 90 minutes after carbohydrate intake rose 3.9%, 11.9%, 34.8% and 22.7% in nonsmokers and 4.9%, 6.5%, 13.8% and 9.7% in smokers, respectively. The peak glucose absorption in nonsmokers was 21.0% greater than in smokers. Salivary amylase activity before and after eating was 75.0% smaller in smokers.

Conclusion

These results suggest that smoking inhibits amylase and has a negative impact on the digestion/absorption of carbohydrates, consequently in blood glucose levels, thereby reducing the amount of energy absorbed.

Indexing terms: Salivate alpha-amylases. Blood glucose. Digestive system bodisses. Tabaco.

INTRODUÇÃO

Os alimentos dos quais o organismo depende não podem ser absorvidos, em suas formas naturais, através da mucosa gastrintestinal, se não forem submetidos a uma digestão preliminar, com exceção das vitaminas e sais minerais.

A cavidade bucal contém saliva, que é secretada por três pares de glândulas salivares: parótida, submandibular e sublingual. A saliva é constituída de aproximadamente 99,5% de água e age como um lubrificante para a mastigação na cavidade oral e deglutição. O pH da saliva situa-se ligeiramente para o lado ácido, cerca de 6,8, embora possa variar para um ou outro lado da neutralidade¹.

Em condições basais, ocorre secreção de cerca de meio mililitro de saliva por minuto, quase totalmente do tipo mucoso, exceto durante o sono, quando a secreção se torna muito pequena. A secreção salivar é fator importante na manutenção da saúde bucal, com função de limpeza e proteção, por meio dos vários mecanismos fi-

siológicos e mecânicos. Estes mecanismos ocorrem em resposta a estímulos táteis e gustativos na boca, assim como visual-olfatório e estimulações de centros cerebrais superiores².

O processo digestivo dos carboidratos tem início com a mastigação, que facilita o acesso das enzimas ao amido. A saliva contém a enzima alfa-amilase, conhecida antigamente como ptialina, cuja função é iniciar na boca a digestão do amido. Essa enzima catalisa a hidrólise das ligações internas α -1,4 do amido, mas não consegue hidrolisar as ligações ramificadas α -1,6. A α -amilase secretada pelo pâncreas possui a mesma especificidade e a sua atividade enzimática total é consideravelmente maior que aquela da amilase salivar. A ação da α -amilase salivar continua até que o alimento no estômago esteja misturado com o ácido gástrico, que inativa a enzima. Depois que a α -amilase salivar é inativada pelo ácido gástrico com o pH em torno de 4,0, não haverá no estômago nenhum processamento adicional dos carboidratos. Dez minutos após penetrar no duodeno, o amido é quase comple-

tamente transformado em maltose, maltotriose, maltooligosacarídeos com ligações α -1,4.

A saliva é o primeiro fluido corporal a entrar em contato com a fumaça inalada do cigarro, que é danosa à cavidade oral e está associada a muitas doenças, como por exemplo, o câncer oral. O tabaco é uma planta da família das Solanáceas da qual existem diversas variedades, sendo a principal a *Nicotiana tabacum* L. Seu uso surgiu aproximadamente no ano 1000 a.C., nas sociedades indígenas da América Central, em rituais mágicos-religiosos, pois acreditavam que o uso contaria o poder de prever o futuro³.

A planta chegou ao Brasil, provavelmente, pela migração de tribos tupis-guaranis. Dependendo da região do cultivo, do solo, da secagem e do armazenamento, a folha do tabaco pode conter cerca de quinhentos constituintes químicos e, quando queimados, já foram isolados cerca de 4 720 substâncias. O principal princípio ativo é a nicotina, um alcalóide que foi isolado em seu estado puro em 1828 por Ponssett e Reiman. O tabagismo é hoje um dos principais problemas de saúde pública. Embora alguns aspectos científicos possam ser estudados, a relação causa e efeito entre o tabaco e várias moléstias já está plenamente demonstrada. É notória a participação do tabaco no aumento e/ou agravamento de doenças cardiovasculares, pulmonares, circulatórias, gastrintestinais, em numerosos tipos de cânceres, bem como em efeitos nocivos no feto, contribuindo para o incremento da morbidade e mortalidade populacional⁴.

A fumaça do cigarro é resultante da combustão incompleta do tabaco⁴. A composição real da fumaça liberada pelo fumante não depende apenas da composição do tabaco, como também da compactação do produto, do comprimento do cigarro, das características do filtro, do papel e da temperatura na qual o tabaco é queimado⁵.

Os principais efeitos da nicotina no sistema nervoso central são: elevação leve no humor (estimulação) e diminuição do apetite. A nicotina é considerada um estimulante leve, apesar de um grande número de fumantes relatarem que se

sentem relaxados quando fumam. Essa sensação de relaxamento é provocada pela diminuição do tônus muscular. No sistema digestório provoca diminuição da contração do estômago, dificultando a digestão. Há um aumento da vasoconstrição e na força de contração cardíaca³. A probabilidade do aparecimento dessas complicações tem relação direta com o tempo de dependência, aumentando proporcionalmente com o grau de exposição⁵.

A síndrome de abstinência e a tolerância são alguns dos sinais que caracterizam o quadro de dependência provocado pelo uso de tabaco³. A dependência existe quando o indivíduo é dominado por uma vontade incontrolável de obter a droga. Sem ela, a ansiedade aumenta e a pessoa normalmente tem uma forte sensação de mal-estar. Quando a dependência existe, o organismo se encontra de tal maneira adaptado à droga que passa a necessitar dela de forma compulsiva. Neste caso, a retirada da droga provoca a chamada "síndrome de abstinência", uma situação na qual a pessoa, independentemente de sua vontade, sofre alterações no funcionamento do organismo, sendo que estas alterações são graves⁶.

Diversos autores admitem que a dificuldade para o fumante abandonar o hábito de fumar se deve aos efeitos experimentados pela abstinência, buscando o alívio de um estado desagradável^{4,6}. Além da fissura pelo tabaco, em humanos, a síndrome de abstinência ao cigarro inclui: bradicardia, desconforto gastrintestinal, aumento do apetite, ganho de peso, dificuldade de concentração, ansiedade, disforia, depressão e insônia⁵.

É bem conhecida a influência do fumo na atividade de algumas enzimas, como por exemplo, da elastase, que se encontra mais ativada em fumantes, aumentando a destruição da elastina e propiciando o enfisema pulmonar. A atividade das enzimas hepáticas também se altera pelo tabaco, promovendo a diminuição da vida média de algumas drogas⁷.

Nos últimos anos, estudos têm sido realizados para averiguar a relação entre parar de fumar e o ganho de peso. Muitos deles não acham diferença entre parar de fumar e o ganho de peso⁸⁻¹⁰; contudo outros estudos têm demonstrado um aumento real no peso após a retirada do tabaco¹¹⁻¹⁴. Muitos ex-fumantes relatam que, após parar de fumar, existe um ganho de peso corporal, mesmo mantendo a qualidade e quantidade alimentar. Não se sabe ainda o mecanismo bioquímico envolvido. Portanto o objetivo deste trabalho foi determinar a atividade da amilase salivar e a relação com a glicemia, antes e após a ingestão de carboidratos em fumantes e não fumantes, a fim de observar a influência do fumo na atividade da enzima e na digestão dos carboidratos.

MÉTODOS

Foram selecionados voluntários fumantes há pelo menos quatro anos ($n=10$), os quais fumam de dez a vinte cigarros por dia, e não fumantes ($n=10$). Os voluntários foram previamente informados sobre a utilização do material biológico para a realização do trabalho, assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido e participaram como voluntários. O estudo seguiu os aspectos éticos recomendados pela Resolução 196/96¹⁵ sobre Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, bem como os princípios éticos. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Camilo Castelo Branco sob o protocolo nº 634-847/04.

Coleta

Foram realizadas coletas da saliva antes e depois da ingestão dos carboidratos. Para os voluntários fumantes a coleta da saliva foi realizada antes do fumo, após o fumo e após a ingestão dos carboidratos.

A glicemia foi determinada nos pacientes em jejum e nos tempos 15, 30, 60, 120 minutos após a ingestão de 200g de batata-frita; este

alimento foi o escolhido devido à maior aceitação pelos voluntários e foi ingerido em no máximo cinco minutos (200g de batata frita correspondem a 72g de carboidratos)¹⁶.

Determinações analíticas

A determinação da atividade da amilase salivar (UA/dL) foi realizada por meio de kits colorimétricos comerciais (*Laborlab*; sensibilidade metodológica: 8 UA/dL; erro do método: <9,3%), utilizando diluição 1:700. A saliva foi centrifugada por vinte minutos a 3000rpm. Em seguida, foi retirado o sobrenadante e realizada as diluições sucessivas. A determinação da glicemia (mg/dL) foi feita por método da química seca (glicose desidrogenase) utilizando o aparelho *Accu-Chek Advantage* (Roche; sensibilidade metodológica: 10mg/dL; erro do método: <3,0%).

Os valores foram representados como média e desvio-padrão. Os gráficos foram feitos no software *Microsoft Excel*. As análises estatísticas foram realizadas após tratamento dos dados no software *Sigmastat*, utilizou-se o método teste *t* pareado ($p<0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos voluntários fumantes foi realizada uma determinação também em jejum após o fumo, comparando-se, assim, a atividade da amilase salivar dos fumantes antes e após o fumo no jejum, observando que não existiram diferenças significativas (Figura 1).

Os resultados acima demonstram que, nos voluntários não fumantes, a atividade da amilase salivar antes da alimentação é menor; e quando o voluntário ingere o alimento esta atividade aumenta. Isto ocorre, devido à maior secreção de saliva na cavidade bucal, durante a mastigação.

Nos voluntários fumantes, observa-se que a atividade da amilase salivar é bem menor em todas as coletas em relação aos não fumantes,

ocorrendo um pequeno aumento depois da alimentação. Estes resultados estão de acordo com Nagler *et al.*^{16,17}, os quais demonstraram, *in vitro*, a exposição da saliva a nove *puffs* de fumaça do cigarro induz à elevação de proteínas carbônicas, provavelmente devido à reação de seus grupos tióis com os aldeídos presentes na fase gasosa, causando uma redução de 34% da atividade da amilase salivar. Goi *et al.*¹⁸ também demonstram a diminuição da atividade da amilase salivar em fumantes e das enzimas antioxidantes. Os resultados obtidos no gráfico acima mostram que a atividade da enzima antes e após alimentação apresentou-se 87,3% e 87,5% menor nos indivíduos fumantes. Além disso, Zappacosta *et al.*^{19,20} verificaram também que um cigarro é suficiente para diminuir a atividade enzimática em 40%. Segundo Moldeus *et al.*²¹ e Joshi *et al.*²², os aldeídos do tabaco inibem diretamente a amilase salivar, e que esta atividade, na presença da glutatona, um antioxidante natural presente na saliva, é preservada.

Em estudos com voluntários fumantes, mediu-se a atividade enzimática e a concentração da Glutatona (GSH) na saliva antes e depois de fumar um único cigarro. Os estudos demonstraram que um cigarro é suficiente para diminuir a atividade enzimática, assim como ficou evidente o efeito protetor exercido pela glutatona salivar cuja concentração ficou significativamente redu-

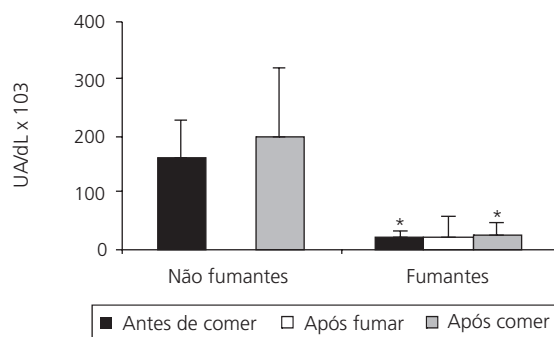


Figura 1. Atividade da amilase salivar em fumantes e não fumantes. São Paulo (SP), 2006.

Nota: * significativo em relação aos não fumantes.

zida^{19,20}. A glutatona reage com a acroleína e o crotonaldeído, os mais importantes aldeídos insaturados²³.

Em ratos e coelhos verificou-se que a fase condensada da fumaça também diminui a glutatona (cerca de 50%) sem nenhum aumento na glutatona oxidada. A toxicidade da fase condensada sobre os hepatócitos e células pulmonares de ratos é decorrente da depleção da glutatona reduzida e, conseqüentemente, perda da integridade da membrana celular. O consumo da glutatona deve ser pela sua conjugação com componentes eletrofílicos do cigarro. Compostos tióis, como N-acetilcisteína na concentração de 1mM, tornam-se protetores pela liberação direta das sulfidrilas^{21,22}.

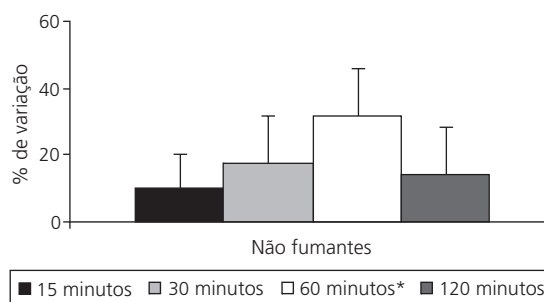


Figura 2. Porcentagem de variação da glicemia nos voluntários não fumantes após a ingestão de 72g de carboidrato. São Paulo (SP), 2004.

Nota: * significativo em relação ao tempo zero.

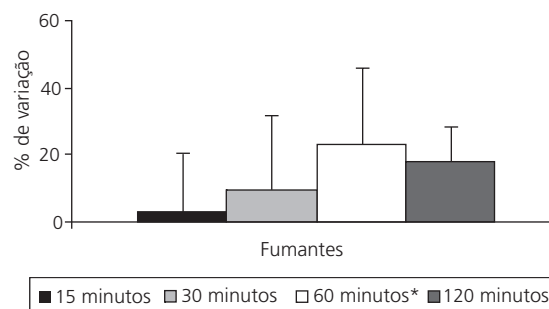


Figura 3. Porcentagem de variação da glicemia nos voluntários fumantes após a ingestão de 72g de carboidrato. São Paulo (SP), 2004.

Nota: * significativo em relação ao tempo zero.

A interação entre os aldeídos do cigarro e os grupos tióis presentes na amilase salivar e na glutatona (antioxidante natural) é, provavelmente, responsável pela redução da atividade enzimática em fumantes, de forma direta, inibindo a enzima, e indireta, através da inativação da glutatona^{21,22}.

Os valores obtidos da glicemia nos voluntários não fumantes antes, 15, 30, 60 e 120 minutos após a ingestão foram de Média (M)=88,7, Desvio-Padrão (DP)=4,7mg/dL; M=96,9, DP=7,6mg/dL; M=103,4, DP=10,0mg/dL; M=117,3, DP=12,6mg/dL e M=102,3, DP=16,1mg/dL, respectivamente (Figura 2).

Os valores obtidos da glicemia nos voluntários fumantes antes, 15, 30, 60 e 120 minutos após a ingestão foram de M=91,8, DP=12,7mg/dL; M=94,7, DP=15,0mg/dL; M=99,4, DP=15,9mg/dL; M=110,5, DP=24,5mg/dL e M=107,1, DP=11,5mg/dL, respectivamente (Figura 3).

Em relação à glicemia, observa-se que a porcentagem de aumento da glicose sanguínea nos tempos 15, 30, 60 e 120 minutos foi de 9,6; 17,0; 32,7 e 15,1% para os não fumantes, enquanto que, nos voluntários fumantes, a porcentagem de aumento foi de 3,5; 10,0; 21,7 e 17,8%, respectivamente. Além disso, observa-se que no tempo sessenta minutos é o pico máximo de absorção da glicose, e apresenta-se uma glicemia

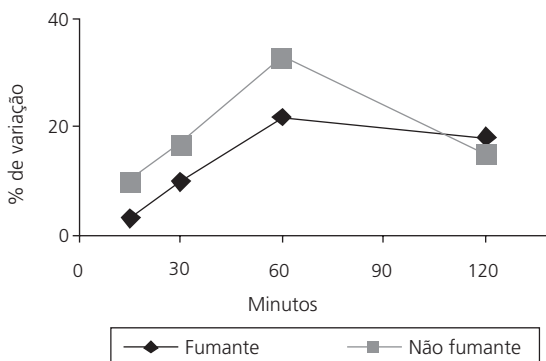


Figura 4. Comparação da porcentagem de variação da glicemia de fumantes e não fumantes nos diferentes tempos. São Paulo (SP), 2004.

Nota: não existiram diferenças significativas.

de 11,0% maior para os voluntários não fumantes, em relação aos fumantes. Portanto, esta tendência sugere uma diminuição da absorção dos carboidratos ingeridos (Figura 4).

Nos últimos anos, estudos têm sido realizados para averiguar a relação de parar de fumar e ganhar de peso. Muitos deles não acham correlação significativa entre os dois fatos⁸⁻¹⁰. Contudo, outros estudos têm demonstrado um aumento real no peso após a parada de fumar¹¹⁻¹⁴. Alguns mecanismos são propostos para este aumento de peso, como o aumento da atividade da lipase lipoproteica do tecido adiposo, fazendo um maior depósito de ácidos graxos neste tecido¹⁹, o aumento do aporte calórico, diminuição da taxa metabólica e diminuição da atividade física²⁰. Estes trabalhos vão de encontro com os resultados aqui demonstrados, onde se sugere que o cigarro diminuiu a absorção de carboidratos.

Também é interessante a observação da curva glicêmica dos fumantes. Ela é similar à dos não fumantes, porém, no tempo 120 minutos, a glicemia dos não fumantes já está praticamente voltando às concentrações iniciais, enquanto que a dos fumantes tem uma tendência a permanecer elevada. Isto poderia sugerir que ainda está ocorrendo a absorção da glicose, pela maior lentidão da digestão destes indivíduos, devido à diminuição da atividade da amilase salivar ou diminuição da entrada da glicose nos tecidos. Alguns trabalhos demonstram que existe uma resposta metabólica menor destes indivíduos frente à elevação da glicemia ou por uma diminuição de produção de insulina e/ou por um aumento da resistência das células²⁴⁻²⁸.

CONCLUSÃO

Estes resultados sugerem que o fumo inibe a atividade da amilase salivar e influencia na diminuição da digestão/absorção de carboidratos, conseqüentemente na concentração de glicose sanguínea, diminuindo assim o aporte energético ingerido.

Este trabalho ainda sugere que o aumento do ganho de peso após a parada de fumar poderia ser devido à menor digestão/absorção dos carboidratos que ocorre por causa da inibição da amilase, mesmo com a mesma quantidade/qualidade da dieta nestas pessoas.

COLABORADORES

P. MOREL participou da orientação do projeto e da redação do artigo. H.L. MADUREIRA responsável pelos experimentos com cinética enzimática. A.K.Y. UWAGOYA e L. WILIAN responsáveis pelo recrutamento, agendamento e curva glicêmica dos pacientes. E.C. PINCINATO responsável pelas análises realizadas e participou da redação do artigo.

REFERÊNCIAS

- Pedersen AM, Bardow A, Beier JS, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Dis.* 2002; 8(3):117-29.
- Nieuw AV, Ligtenberg AJ, Veerman EC. Implications for diagnostics in the biochemistry and physiology of saliva. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1098(1):1-6.
- Centro Brasileiro de Informação sobre Drogas Psicotrópicas. São Paulo: Unifesp; 2001.
- Oga S. Fundamentos de toxicologia. São Paulo: Atheneu; 1996.
- O'Brien CP. Drug addiction and abuse. *In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.* 10th ed. New York: Pregamon; 2001. p.621-42.
- Planeta CS, Cruz FC. Bases neurofisiológicas da dependência de tabaco. *Rev Psiquiatr Clin.* 2005; 32(5):251-8.
- Rosemberg J. Tabagismo: sério problema de saúde pública. São Paulo: Artmed; 1981.
- Ferrara CM, Kumar M, Nicklas B, McCrone S, Goldberg AP. Weight gain and adipose tissue metabolism after smoking cessation in women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001; 25(9):1322-6.
- Filozof C, Fernandez PMC, Fernandez CA. Smoking cessation and weight gain. *Obes Rev.* 2004; 5(2):95-103.
- Allen SS, Allen AM, Mooney M, Bade T. Short-term weight gain by menstrual phase following smoking cessation in women. *Eat Behav.* 2009; 10(1):52-5.
- Burke JP, Hazuda HP, Stern MP. Rising trend in obesity in Mexican Americans and non-Hispanic whites: is it due to cigarette smoking cessation? *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 24(12):1689-94.
- Gruber J, Frakes M. Does falling smoking lead to rising obesity. *J Health Econ.* 2006; 25(2):183-97.
- Levine MD, Marcus MD, Perkins KA. Women, weight, and smoking: a cognitive behavioral approach to women's concerns about weight gain following smoking cessation. *Cogn Behav Pract.* 2003; 10(2):105-11.
- Chaney SE, Sheriff S. Weight gain among women during smoking cessation: testing the effects of a multifaceted program. *AAOHNJ.* 2008; 56(3):99-105.
- Nagler RM, Klein I, Reznick AZ. The interaction between saliva and cigarette smoke and its devastating biological effects as related to oral cancer. *Harefuah.* 2001; 140(7):614-77.
- Sociedade Brasileira de Diabetes [Internet]. São Paulo: Sociedade Brasileira de Diabetes [acesso 2008 jun 10]. Disponível em: <www.diabetes.org.br/apundendo/contagem_carboidratos/tabela_decontagem.php>.
- Nagler R, Lischinsky S, Diamond E, Drigues N, Klein I, Reznick AZ. Effect of cigarette smoke on salivary proteins and enzyme activities. *Arch Biochem Biophys.* 2000; 379(2):229-36.
- Goi N, Hirai Y, Harada H, Ikari A, Ono T, Kinae N, *et al.* Comparison of peroxidase response to mental arithmetic stress in saliva of smokers and non-smokers. *J Toxicol Sci.* 2007; 32(2):121-7.
- Zappacosta B, Persichilli S, De Sole P, Mordente A, Giardina B. Effect of smoking one cigarette on antioxidant metabolites in the saliva of healthy smokers. *Arch Oral Biol.* 1999; 44(6):485-8.
- Zappacosta B, Persichilli S, Mordente A, Minucci A, Lazzaro D, Meucci E, *et al.* Inhibition of salivary enzymes by cigarette smoke and the protective role of glutathione. *Hum Exp Toxicol.* 2002; 21(1):7-11.
- Moldeus P, Berggren M, Grafstrom R. N-acetylcysteine protection against the toxicity of cigarette smoke and cigarette smoke condensates in various tissues and cells in vitro. *Eur J Respir Dis Suppl.* 1985; 139(1):123-9.
- Joshi UM, Kodavanti PR, Mehendale HM. Glutathione metabolism and utilization of external thiols by cigarette smoke-challenged, isolated rat and rabbit lungs. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1988; 96(2):324-35.
- Reddy S, Finkelstein EI, Wong PS, Phung A, Cross CE, Vander Vliet A. Identification of glutathione

- modifications by cigarette smoke. *Free Radic Biol Med.* 2002; 33(11):1490-8.
24. Eliasson B. Cigarette smoking and diabetes. *Prog Cardiovasc Dis.* 2003; 45(5):405-13.
25. Perry IJ, Wannamethee SG, Walker MK, Thomson AG, Whincup PH, Shaper AG. Prospective study of risk factors for development of noninsulin dependent diabetes in middle aged British men. *BMJ.* 1995; 310(6979):560-4.
26. Wannamethee SG, Shaper AG, Perry IJ. Smoking as a modifiable risk factor for type 2 diabetes in middleaged men. *Diabetes Care.* 2001; 24(9): 1590-5.
27. Uchimoto S, Tsumura K, Hayashi T, Suematsu C, Endo G, Fujii S, *et al.* Impact of cigarette smoking on the incidence of type 2 diabetes *mellitus* in middle-aged Japanese men: The Osaka Health Survey. *Diabet Med.* 1999; 16(11):951-5.
28. Manson JE, Ajani UA, Liu S, Nathan DM, Hennekens CH. A prospective study of cigarette smoking and the incidence of diabetes *mellitus* among US male physicians. *Am J Med.* 2000; 109(7):538-42.

Recebido em: 29/7/2008
Versão final reapresentada em: 6/10/2009
Aprovado em: 2/3/2009