
**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA
NÍVEL: DOUTORADO**

NÓRIS COIMBRA SCAGLIA

**Metabolismo Lipídico e Tabagismo – Consumo alimentar e concentrações de
ômega-3 em fumantes e não fumantes**

**Porto Alegre
2014**

**Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde**

**Metabolismo Lipídico e Tabagismo – Consumo alimentar e concentrações de
ômega-3 em fumantes e não fumantes**

Nóris Coimbra Scaglia

Tese apresentada como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde no Curso de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, área de concentração em Clínica Médica, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. José Miguel Chatkin

Co-orientador: Dr. Noé Zamel

**Porto Alegre
2014**

Metabolismo Lipídico e Tabagismo

Nóris Coimbra Scaglia

Projeto desenvolvido através da parceria entre a Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do SUL (PUCRS) / Brasil e a University of Toronto – University Health Network (UofT – UHN) / Canadá. Realização de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE) financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Ficha Catalográfica

Dedico esta tese à minha família e amigos do coração, que sempre torceram pela conquista dos meus sonhos. Em especial à minha mãe, grande responsável por minhas realizações. Estando comigo, de perto ou de longe, sempre me dando amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Miguel Chatkin, por mais essa oportunidade, pela constante orientação, pelo incentivo de sempre na continuidade da minha trajetória acadêmica e, em especial, pelo estímulo na realização do Doutorado Sanduíche.

Ao Prof. Dr. Noé Zamel, que me foi muito além de co-orientador, pela confiança, oportunidade, ajuda e toda motivação oferecida. Por ter me proporcionado as melhores condições de trabalho e especialmente por ter facilitado a realização do meu sonho. Ainda, por ter me apresentado Toronto, onde vivi parte dos melhores momentos da minha vida.

Ao Prof. Dr. Mário Bernardes Wagner, pelo assessoramento estatístico e pelo contínuo ensinamento.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

À CAPES, pelo imprescindível auxílio financeiro, tanto na realização do curso de Doutorado quanto pelo Estágio de Doutorado Sanduíche no Exterior.

À amiga Adriana Falcone Saldanha, pela amizade, por carregar minhas forças, por me alimentar com o seu bom humor e forma de ver a vida. Obrigada por me fazer continuar acreditado nas pessoas, sobretudo em mim mesma.

À amiga, colega e sócia Edna Thais Jeremias Martins, pela amizade, apoio, compreensão e segurança que me transmite. Por acreditar em mim e nos meus sonhos. Agradeço especialmente por ter cuidado tão bem da nossa empresa durante todo o ano em que estive fora. Agradeço ainda por ter me enchido de felicidade ao me visitar no Canadá, juntamente com o Diogo Martins. Jamais me esquecerei daqueles momentos.

À amiga, Fernanda Falcone, pela valiosa amizade, por sempre me incluir na sua vida. Por todos os momentos juntas, que deixaram mais leves, mesmos os momentos mais pesados dessa trajetória.

À amiga Letícia Gonçalves, por fazer o meu ano canadense mais feliz. Por ter estado comigo, vivendo as mesmas alegrias e dificuldades. Por ter amenizado as minhas angústias e medos, por ter me apresentado uma amizade para a vida toda.

Aos demais amigos do coração, por caminharem junto comigo, durante todas as etapas dessa jornada.

Aos médicos do Serviço de Pneumologia do Hospital São Lucas da PUCRS, em especial à Dra. Jussara Fiterman, ao Dr. Carlos Cezar Fritscher, à Dra. Daniela Blanco e à Dra. Fabiane Kahan, pelo apoio e compreensão na minha ausência.

Aos companheiros de trabalho, Danila Inocente, Camila Schuh e Luis Sena, pelo auxílio, pela disponibilidade, especialmente durante a minha ausência. Pela competência que tanto me tranquilizou e pelo serviço de qualidade que prestam.

Aos amigos Ernesto Carlos do Amaral e Vanessa Regina do Santos, pela amizade, dedicação, eficiência, profissionalismo, e, principalmente, por terem cuidado da minha mãe durante a minha ausência.

A todos os colegas do Toronto Western Hospital e Centre of Addiction and Mental Health, de Toronto/Canadá, por terem me ajudado na condução da pesquisa. Em especial às Coordenadoras Pearl Latty e Judy Vander, por todo apoio e amizade. Aos chefes de Serviço, Dr. Kenneth Chapman e Peter Selby pela oportunidade.

Aos colegas do Toronto General Hospital, Toronto/Canadá por toda a ajuda e o apoio, Em especial à Bianca Arendt e Johane Allard do Laboratório de Bioquímica, pelo auxílio na análise das amostras do estudo.

Ao casal Ivone e Norbert que me acolheram no país novo, por todo o carinho e a amizade. Em especial à Ivone, pelos seus conselhos e ensinamentos.

Aos participantes voluntários, por terem viabilizado a condução desse estudo.

A todos os meus familiares, especialmente aos meus tios, tias e primos. Agradeço por manterem a nossa família cada vez mais unida, por todo o carinho que sempre recebi, por terem sentido minha falta e em especial por todo o cuidado oferecido à minha mãe e avós.

A todos os novos amigos de diferentes nacionalidades, especialmente aos canadenses, que abriram meus olhos e pensamentos para um novo mundo cheio de possibilidades.

Aos meus amados avós, por tudo que representam para mim. Maria Helena, meu amor em forma de avó, e Eragô, que, em julho desse ano, me deixou com saudades eternas após me acompanhar por toda a vida.

Ao meu irmão Lucas, pelo amor incondicional, pela parceria, por me guiar, por me incentivar, acreditar em mim e me cuidar. Pelo orgulho que me dá todos os dias. Por ter nascido meu irmão e ter me dado oportunidade de sentir esse amor todo.

Ao meu namorado Nathan, por ter entrado na minha vida me dando força e uma razão maior para concluir essa etapa. Por ter me apresentado um amor diferente e ter tornado os meus dias muito mais felizes.

À minha mãe, pelo amor inexplicável, por tudo que fez e faz por mim. Por ter cuidado da nossa família nos momentos difíceis da minha ausência. Por ser a minha maior admiradora, cuidar de mim e sempre continuar ao meu lado, acreditando e me incentivando.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.

(Isaac Newton)

“As pessoas não fazem viagens, as viagens fazem as pessoas”.

(John Steinbeck)

RESUMO

Introdução: Os compostos lipídicos, especialmente os ácidos graxos, são componentes que estão presentes em diversas formas de vida, desempenhando importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos. Em humanos, existem alguns ácidos graxos necessários para a manutenção da função cerebral e transmissão de impulsos nervosos. São os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), pertencentes às famílias ômega-3.

Alterações quantitativas na dieta, em relação ao consumo de PUFAs da família ômega-3 têm chamado bastante atenção tanto para os benefícios causados por sua ingestão quanto aos danos atribuídos ao seu baixo consumo. O consumo destes ácidos graxos pode ser útil também na prevenção e tratamento da inflamação e doenças respiratórias, nas quais a inflamação crônica desempenha papel significativo. Além disso, o baixo consumo de ômega-3 também tem sido relacionado ao tabagismo.

Assim como o padrão alimentar, o fumo também pode interferir diretamente nos níveis sanguíneos dessas substâncias, já que o tabagismo pode afetar a síntese e o metabolismo dos ácidos graxos. Desse modo, faz-se importante explorar e compreender os mecanismos desta relação.

Objetivo: Estudar a relação dos ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 com o tabagismo.

Métodos: Em delineamento de estudo transversal controlado, foram incluídos pacientes tabagistas (n=50) e não tabagistas (n=50). Os participantes do grupo I foram recrutados através do Serviço de abandono ao Tabagismo do Toronto Western Hospital e do Centre for Addiction and Mental Health – Toronto/Canadá. Esses participantes foram incluídos logo após a primeira consulta médica, quando ainda não tinham realizado modificações no hábito de fumar. O grupo II foi composto por voluntários não fumantes. Todos os participantes completaram o questionário específico para obtenção de dados demográficos e informações sobre seus hábitos de vida. Os pacientes tabagistas responderam também ao Questionário de Fagerstrom para Dependência Nicotínica. Foi coletada amostra de sangue para avaliação do nível sérico de ácidos graxos poli-insaturados.

Resultados: Foram incluídos 100 participantes, sendo 50 não tabagistas e 50 tabagistas. Com relação ao consumo alimentar, a ingestão de peixe apresentou diferença significativa entre fumantes e não fumantes. Os não fumantes apresentaram mediana de consumo mensal de 800 (0 – 7740) gramas de peixe, enquanto fumantes consumiam 430 (0 – 2150) gramas por mês (P= <0,001). Em relação aos níveis séricos dos PUFAS, houve diferença significativa para o DHA (22:6, n-3), tendo sido nos fumantes de 4,13% (2,33 – 7,73), significativamente menor que a do grupo de não fumantes 4,81% (2,79 – 10,21) , P=0,002.

Conclusão: Fumantes consomem significativamente menos peixe (ômega-3), quando comparados a não fumantes. Fumantes apresentam níveis séricos de DHA mais baixos do que não fumantes.

ABSTRACT

Introduction: Quantitative changes in the consumption of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) of the omega-3 family have drawn considerable attention, both for the benefits related to its ingestion, as for the damages attributed to its poor consumption. Consumption of these fatty acids is beneficial in the prevention and treatment of many inflammatory and respiratory illnesses. In addition to the dietary pattern, smoking may also directly interfere in the serum levels of these substances, given that smoking can affect the synthesis and metabolism of fatty acids.

Objective: To study the relationship between polyunsaturated fatty acids of the omega-3 family and smoking.

Methods: In a controlled cross-sectional study, we included smokers (group I) and non-smokers (group II). The participants of group I were recruited at the Smoking Cessation Outpatient Clinic - Toronto Western Hospital and at Smoking Cessation Outpatient Clinic - Centre for Addiction and Mental Health, both in Toronto, Canada. Group II volunteers were recruited from non-smoking hospital staff. The group I participants were included after their first medical appointment, before possible changes in their smoking habits and completed a specific questionnaire with demographic data and lifestyle habits. All smoking patients were submitted to the Fagerstrom Questionnaire for Nicotine Dependence. A blood sample was taken in order to assess the serum level of polyunsaturated fatty acids of all participants.

Results: One hundred participants were included, 50 non-smokers and 50 smokers. Monthly fish intake was significantly different between smokers 430 grams (0 - 2150) and non-smokers (800 grams; 0-7740) ($P < 0.001$). The blood level of PUFAs also showed a significant difference in DHA, being 4.13% (2.33-7.73) and 4.81% (2.79-10.21), $P = 0.002$ among smokers and non-smokers, respectively.

Conclusion: In this study, smokers consumed a significantly less fish (omega-3), when compared to non-smokers. Smokers also had lower levels of DHA serum than non-smokers.

LISTA DE FIGURAS E QUADROS

Figura 1 - Estrutura do ácido graxo	18
Figura 2 - Estrutura do ômega-3.....	19
Figura 3 - Composição da Membrana Celular	20
Figura 4 - Consumo de peixe em não fumantes e fumantes	38
Figura 5 - Índice de Ômega-3.....	39
Figura 6 - Consumo de peixe conforme tabagismo	41
Figura 7 - Consumo de peixe em relação ao nível de dependência de nicotina	42
Quadro 1 - Nomenclatura de alguns PUFAs	21
Quadro 2 - Escala de magnitude de algumas medidas de efeito (força de associação) utilizadas neste estudo.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características e hábitos dos participantes, n=100.	38
Tabela 2 - Percentuais de PUFAS da família ômega-3 em relação ao.....	39
Tabela 3 - Consumo de peixe entre fumantes e não fumantes.....	40
Tabela 4 - Porcentagem de consumo de tipos de peixe entre fumantes e não fumantes.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS	Síndrome de imunodeficiência adquirida
ANCOVA	Análise de covariância
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DHA	Ácido docosahexaenóico
EDTA	Ácido etileno diamino tetracético
EPA	Ácido eicosapentaenóico
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
IMC	Índice de massa corporal
MR	Razão de médias
η^2	Eta-quadrado
nAChRs	Receptores acetilcolinérgicos do tipo nicotínico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PUFAs	<i>Polyunsaturated fatty acids</i>
r^2	Coeficiente de determinação
r_s	Coeficiente de correlação de Spearman
SNC	Sistema nervoso central
SPSS	<i>Statistical Product and Service Solutions</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 CONCEITO DE ÁCIDO GRAXO	17
2.2 FAMÍLIA ÔMEGA-3.....	19
2.3 ÔMEGA-3	21
2.3.1.Benefícios e fontes de consumo	21
2.3.2 Níveis sanguíneos / Índice de ômega-3	22
2.3.3 Papel do ômega-3 na função cerebral	23
2.4 TABAGISMO.....	25
2.4.1 Epidemiologia e malefícios.....	25
2.4.2 Interação do Tabagismo na Função Cerebral	27
2.4.3 Tabagismo e Ácidos Graxos	27
3 JUSTIFICATIVA	30
4 HIPÓTESE	31
5 OBJETIVOS	32
5.1 OBJETIVO GERAL	32
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
6 METODOLOGIA	33
6.1 PROCEDIMENTOS	33
6.2 ÉTICA	34
6.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	34
6.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	34
6.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
7 RESULTADOS	37
8 DISCUSSÃO	43
9 CONCLUSÕES	47
10 REFERÊNCIAS	49
ANEXOS	59
ANEXO 1 - CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR DA PESQUISA.....	0
ANEXO 2 - QUESTIONÁRIO	0

ANEXO 3 - TESTE.....	0
ANEXO 4 - APROVAÇÃO CEP	0
ANEXO 5 - APROVAÇÃO DO CEP DA UOFT/UHN.....	0
ANEXO 6 - CARTA DE SUBMISSÃO DO ARTIGO ORIGINAL.....	0
ANEXO 7 - CARTA DE SUBMISSÃO DO ARTIGO ORIGINAL.....	0

1 INTRODUÇÃO

Presentes em diversas formas de vida, os compostos lipídicos, especialmente os ácidos graxos, desempenham importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos. Em humanos, existem alguns ácidos graxos necessários para a manutenção da função cerebral e transmissão de impulsos nervosos. Trata-se dos ácidos graxos poli-insaturados (em inglês, *polyunsaturated fatty acids*: PUFAs), pertencentes à família ômega-3.(1, 2)

Alterações quantitativas na dieta, em relação ao consumo destes PUFAs têm chamado atenção tanto para os benefícios causados por sua ingestão quanto aos danos atribuídos ao seu baixo consumo.(3)

Dietas ricas em ômega-3 são umas das interações mais estudadas entre alimentação e o desenvolvimento cerebral devido a grande quantidade destas substâncias na membrana celular. Existe a hipótese de que o consumo de ômega-3, ao longo da evolução humana, tenha contribuído para tal desenvolvimento.(4) Estes lípidos podem também ser úteis na prevenção e tratamento da inflamação em geral e em doenças respiratórias, nas quais a inflamação crônica desempenha papel significativo.(5-7)

Várias doenças respiratórias são acompanhadas ou ocasionadas por reações inflamatórias crônicas, o que agrava bastante o prognóstico da doença de base. Outro agravante é a inalação de fumaça de cigarro. O desenvolvimento desta inflamação envolve a participação de mediadores inflamatórios. Em doenças pulmonares, alterações no perfil dos PUFAS têm ação direta na resposta inflamatória, pois estas substâncias tem participação nesse processo através de mediadores lipídicos.(7-11)

Nessa mesma linha de argumentação, em humanos, as dietas deficientes em ômega-3 também estão associadas a fenômenos inflamatórios mais intensos e mais frequentes, aumentando do risco de desordens mentais, incluindo déficit de atenção,

Introdução

dislexia, demência, depressão, suicídio, transtorno bipolar e esquizofrenia.(12-23) Além disso, diferenças nos níveis ômega-3 também têm sido relacionados ao tabagismo.(5, 19, 24-30)

Em virtude da associação dos componentes da família ômega-3 com manutenção da saúde e levando em consideração que o corpo humano não os sintetiza suficientemente, seu consumo dietético é uma necessidade nutricional. (31)

Além do padrão alimentar, o fumo também poderia interferir diretamente nos níveis sanguíneos dessas substâncias (24), por afetar a síntese e o metabolismo dos ácidos graxos. (5, 24, 27, 32, 33)

Desse modo, faz-se importante explorar e compreender os mecanismos da relação entre ácidos graxos e tabagismo. Nas seções a seguir, alguns destes pontos serão detalhados.

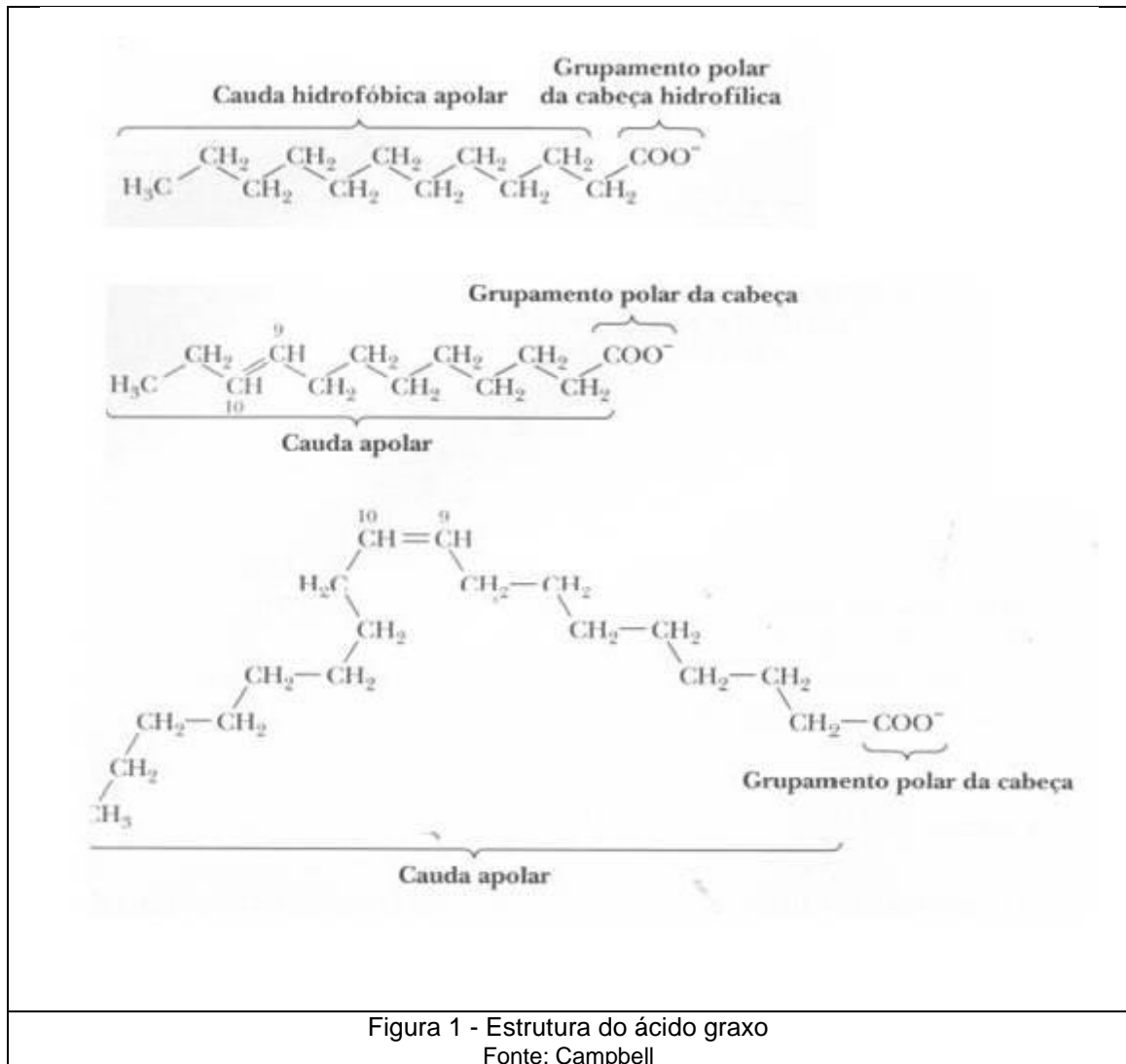
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CONCEITO DE ÁCIDO GRAXO

Os lipídeos são compostos frequentemente presentes na dieta humana. A sua classificação se dá através da natureza química, podendo pertencer a dois grupos.(34)

Um deles consiste em compostos com cadeia aberta com grupamento carboxila na extremidade polar e longas caudas na cadeia de hidrocarbonetos apolares, cujo representante principal é o ácido graxo. O segundo grupo consiste em compostos de cadeia cíclica, os esteróides. Um importante representante deste grupo é o colesterol.(35)

Os ácidos graxos que aparecem nos organismos vivos contêm número par de átomos de carbono e usualmente a cadeia de hidrocarbonetos não é ramificada. Se existirem ligações duplas entre os carbonos na cadeia, o ácido graxo é insaturado, mas se existirem ligações simples, o ácido graxo é dito saturado. **(Figura 1)** (35)



O consumo de gorduras em excesso, pode causar severos impactos negativos para a saúde; entretanto, quando se trata de consumo de ácidos graxos, a ingestão pode ser benéfica, dependendo do grau de saturação dos compostos. Segundo a 1ª Diretriz sobre o Consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular, de 2013, o consumo de gordura saturada está relacionado com aumento de risco cardiovascular. A sua substituição por gorduras mono-insaturadas e poli-insaturadas é considerada uma estratégia para o melhor controle da dislipidemias e consequente redução da possibilidade de eventos clínicos.(36)

Os ácidos graxos apresentam diferentes tamanhos de cadeia de 3 a 24 átomos de carbono.(37) São classificados de acordo com o número de carbonos na cadeia, o número de ligações duplas e a posição da primeira ligação dupla. Os

ácidos graxos de cadeia curta possuem de 4 a 6 carbonos, os de cadeia média, de 6 a 12 e os de cadeia longa, de 14 a 22 carbonos. Cada carbono na cadeia possui quatro locais de ligação de hidrogênio.(35, 37)

Quando todos os locais de ligação do hidrogênio estão saturados, o ácido graxo é chamado de saturado. Quando os ácidos graxos possuem apenas uma ligação dupla de carbono, são denominados monoinsaturados e, com duas ou mais ligações duplas, poli-insaturados.(35, 37)

Existem ácidos graxos poli-insaturados chamados essenciais para as funções celulares do organismo. São assim considerados porque o organismo humano não consegue produzi-los. Eles podem atuar como precursores para a síntese de outros ácidos graxos. É o caso do ácido alpha-linilênico, capaz de sintetizar o ácido docosahexaenóico, e do ácido eicosapentaenóico, PUFAs essenciais da família ômega-3, que serão abordados a seguir.(35, 37)

2.2 FAMÍLIA ÔMEGA-3

A família ômega-3 abrange ácidos graxos cujas moléculas apresentam carbonos insaturados separados apenas por um carbono metilênico, com a primeira insaturação no terceiro carbono (**Figura 2**). (34) Diversos estudos mostram que o aumento do nível sanguíneo de ômega-3 impacta positivamente na prevenção de várias doenças e na promoção da saúde. (3, 38-42)



Figura 2 - Estrutura do ômega-3
Fonte: Koolman

O metabolismo humano, via função hepática, é capaz de converter alguns ácidos graxos essenciais em outros ácidos graxos da mesma família. Encontrado em alimentos como folhas, carnes de frango, peixes e óleos vegetais, O α -linolênico

(18:3n-3), PUFA da família ômega-3, é um desses casos, pois é convertido em ácido docosahexaenóico (DHA; 22:6n-3) e ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5n-3). O DHA e o EPA têm se destacado pelos benefícios à saúde a eles atribuídos, pois têm o poder de modular determinadas funções celulares, uma vez que estão presentes abundantemente na estrutura membranosa das células (31, 42-44).

As bases da estrutura das membranas celulares e das organelas são componentes proteicos e lipídicos. (**Figura 3**). A função da membrana é não somente separar as células do seu ambiente externo, como delimitadores, mas também de desempenhar papel no transporte de substâncias específicas para dentro e para fora das células. Essa função é chamada de permeabilidade ou fluidez de membrana. Além disso, várias enzimas importantes são encontradas nas membranas e dependem desse ambiente para exercerem suas funções. (34, 35)

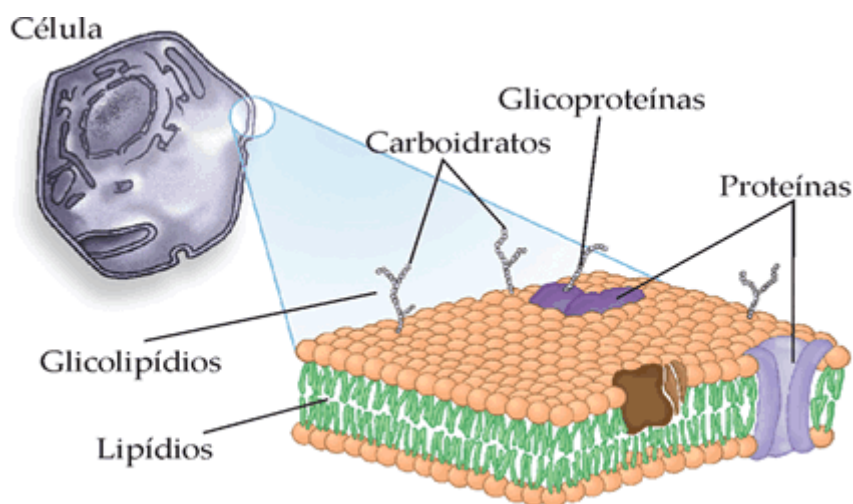


Figura 3 - Composição da Membrana Celular
 Fonte: Ministério da Educação/Brasil – Banco Internacional de Objetos Educacionais

Devido ao papel do DHA e EPA na membrana celular e, conseqüentemente, nas funções celulares, mesmo havendo conversão de ácidos graxos essenciais nestes PUFAs, a quantidade total oferecida ao organismo não é suficiente, necessitando-se, então, de sua obtenção através de fontes dietéticas. (31, 34-36)

Em relação ao consumo dietético, é importante atentar para o fato que existe interação do ômega-3 com diferentes PUFAs, nesse caso de uma diferente família, chamada ômega-6. O ômega-6 e o ômega-3, durante a metabolização, competem

pelas mesmas enzimas, influenciando o produto final desses ácidos graxos. Apesar dessas enzimas terem maior afinidade pelos ácidos graxos ômega-3, a conversão do ácido alfa-linolênico EPA e DHA é fortemente influenciada pelos níveis de ácido alfa-linoleico (pertencente à família ômega-6). Portanto, maior ingestão de ácidos graxos ômega-6 prejudica os processos metabólicos do ômega-3. Em relação ao consumo, dietas ocidentais têm, em média, uma razão ômega-6/ômega-3 em torno de 10 a 20:1. Neste sentido, há várias recomendações que têm sido estabelecidas por autores e órgãos de saúde de diferentes países sobre a razão ideal de ômega-6 e ômega-3. Países como Alemanha e Suécia estabeleceram a razão 5:1, enquanto que no Japão essa recomendação é mais rigorosa, sendo de 2:1. A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) estabelece uma recomendação de 5-10:1. (45)

No quadro 1, estão apresentados por codificação e nomenclatura alguns ácidos graxos da família ômega-3.

**Quadro 1 - Nomenclatura de alguns PUFAs
Família Ômega-3**

Codificação	Nomenclatura
18:3	Ácido alpha-linolênico
20:5	Ácido Eicosapentaenoico
22:5	Ácido Docosapentaenoico
22:6	Ácido Docosahexaenoico

2.3 ÔMEGA-3

Nesta seção serão abordados conceitos e informações específicas em relação ao ômega-3, que serviram de base ao desenvolvimento deste trabalho.

2.3.1. Benefícios e fontes de consumo

Os frutos do mar constituem a fonte de consumo de ômega-3 de mais fácil acesso, onde DHA e EPA existem em abundância. (31, 36, 44)

Apesar de todos os esforços envolvendo a divulgação dos benefícios do consumo de ômega-3, a sua ingestão, na maioria dos países, ainda é baixo, em

relação ao esperado.(46) Segundo evidências de base, a recomendação de consumo é de 500 mg/dia , quantidade equivalente a duas refeições com consumo de peixe rico em ômega-3 por semana, para redução de risco cardiovascular. Para pessoas com doenças cardiovasculares pré-existentes a quantidade recomendada é de 1g/dia. (47)

EPA e DHA estão entre os biocompostos de origem marinha mais estudados. O óleo de peixe é a principal fonte de suplementação dietética destes PUFAs e tem sido usado como suplemento nutricional há longo tempo. O óleo de peixe é considerado um suplemento dietético concentrado bastante popular pela praticidade do seu uso. Além disso, os peixes e frutos do mar, como salmão, anchova, sardinha, atum e truta, entre outros, são também fontes ricas de ômega-3. (31)

O ômega-3 é reconhecido por, além de ajudar a prevenir inflamações (42, 48, 49), desacelerar o envelhecimento (17, 50, 51), atuar positivamente em doenças como artrite e depressão.(28, 52, 53) Além disso, oferece melhorias na resistência à insulina (54) e no retardamento da progressão de determinados tipos de câncer (55-57), inclusive o de pulmão. (58) O ômega-3 ainda ajuda na regulação do perfil lipídico (59, 60) e tem interferência no aumento da qualidade de vida. (3, 53)

Estes PUFAs também possuem papel essencial na manutenção de inúmeras funções cerebrais e, até mesmo, na estrutura cerebral, estando envolvidos na formação de memória, possivelmente por atuação na membrana sináptica, e em mecanismos de neuroproteção, através da presença em membranas celulares e de organelas. (43, 61) Além disso, o DHA está associado ao processo de cognição e de transmissão nas sinapses cerebrais. (62)

2.3.2 Níveis sanguíneos / Índice de ômega-3

Os níveis sanguíneos de ômega-3 variam conforme o padrão alimentar e podem sofrer influência por meio de suplementação dietética específica deste grupo de substâncias. (63).

Apesar de sua importância na dieta e na saúde humana (3, 31), não existe ainda na literatura uniformidade quanto ao nível sanguíneo ideal de ômega-3. O

índice de ômega-3, introduzido em 2010, tem sido utilizado para relacionar riscos cardiovasculares à concentração sanguínea desta substância. Quantificações de ômega-3 menores que 4% do total de ácidos graxos são consideradas preditoras de alto risco de mortalidade por eventos cardiovasculares. (63, 64)

2.3.3 Papel do ômega-3 na função cerebral

O consumo dietético destas substâncias tem importância na formação cognitiva individual e possivelmente interferiu na evolução do cérebro na raça humana. Nos últimos anos, têm-se evidências de que a dieta pode influenciar, de modo positivo, a manutenção da função do Sistema Nervoso Central através de suplementação ou, de modo negativo, se ocorrer restrição de substâncias essenciais. (43, 61, 65-68)

Dietas com alto valor de gorduras saturadas não suportam o processo cognitivo e, com isso, aumentam o risco para disfunções neurológicas tanto em humanos quanto em animais. (66) Por outro lado, dietas com altos níveis de gorduras poli-insaturadas têm mostrado benefícios para a função cerebral. (43, 61, 69) Alimentação rica em ômega-3 vem ganhando força em evidências de melhoria da cognição em humanos (70) e, também, na regulação de genes relacionados à manutenção de sinapses no cérebro e no desenvolvimento da plasticidade neural. (71, 72)

Os mecanismos pelos quais o DHA, PUFA da família ômega-3 mais estudado em relação à função cerebral, afeta a plasticidade neural e a capacidade cognitiva estão apenas começando a ser elucidados. (43, 51, 61, 71-74) O DHA é um componente importante da estrutura da membrana celular cerebral e é essencial para o apropriado funcionamento neural (35, 75). Pode assim afetar a função sináptica e habilidades cognitivas através da permeabilidade da membrana plasmática, cujos fosfolipídios são mais de 30% da sua composição total. Portanto, o DHA é crucial para manter a integridade da membrana e da excitabilidade neuronal. (61)

Além disso, através do seu papel na permeabilidade celular, os ácidos graxos da família ômega-3 são capazes de modular os níveis de colesterol a partir da membrana plasmática.(72) Esta permeabilidade de membrana facilita a funcionalidade dos canais iônicos envolvidos nos processos de transdução de sinal.(76, 77) Juntos, estes efeitos conduzem à melhoria da neurotransmissão e sinalização e, por conseguinte, na otimização do funcionamento cognitivo.

Conforme constatado, as dietas ricas em ômega-3 têm sido cada vez mais relacionadas a efeitos positivos na função cerebral, podendo afetar múltiplos processos, regulando as vias de neurotransmissores, transmissão sináptica, permeabilidade da membrana e transdução de sinal. Os lipídios, que originalmente acreditava-se afetarem o cérebro através de seus efeitos sobre a fisiologia cardiovascular, estão ganhando reconhecimento por suas ações diretas no cérebro.(17, 43)

Assim, a ingestão de ômega-3 é indispensável para manter a permeabilidade da membrana iônica e a função de receptores transmembrana que suportam transmissão sináptica e capacidades cognitivas.(51)

Outro ponto importante a ser citado é o crescente corpo de evidências que sugere o envolvimento do ômega-3 na reatividade individual e sensibilidade ao estresse psicossocial. Deficiências de DHA e EPA facilitam a resposta excessiva ao estresse (78), tais como hostilidade e raiva. (79) Em contraste, a suplementação de ômega-3 pode inibir essa resposta estressora. (80) Possivelmente isso ocorre por ativação adrenal e, conseqüentemente, ativação do metabolismo cerebral de serotonina, melhorando o potencial de enfrentamento do estresse. (81)

Conforme já citado anteriormente, o EPA e o DHA são os ácidos graxos essenciais que não podem ser facilmente sintetizados pelo organismo humano. Portanto, a função do cérebro é extremamente dependente da ingestão de PUFA's da família ômega-3.

Assim, a suplementação destes PUFA's pode contribuir para uma série de benefícios à saúde e à qualidade de vida, bem como na prevenção de diversas doenças e redução de sintomas como depressão, raiva e agressividade. Yehuda et al. (2005), em análise dos efeitos das PUFA's sobre a ansiedade, observou diminuição nos níveis de cortisol e melhora de variáveis associadas, tais como

apetite, humor e concentração. (82) Nesse sentido, o ômega-3 mostrou aparente efeito ansiolítico. (83)

Assim, pode-se observar o benefício do ômega-3 atuando na melhoria e prevenção de em diversas doenças e contribuindo na promoção da saúde. Além disso, é importante salientar que a deficiência dietética de ômega-3 em humanos tem sido associada com aumento de risco para diversos transtornos mentais, incluindo o tabagismo. (28)

2.4 TABAGISMO

Nas seções seguintes, o tabagismo será abordado. Primeiramente de uma maneira geral, através da epidemiologia e malefícios causados. Logo após, será relacionado com o ômega-3, o foco principal desse estudo.

2.4.1 Epidemiologia e malefícios

O tabagismo, comportamento bastante difundido na população em geral, está associado com o desenvolvimento de inúmeras doenças, especialmente no sistema respiratório e no aparelho cardiovascular, além de inúmeros tipos de neoplasias e de infecções (84).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera atualmente o tabagismo a principal causa de morte evitável no mundo (84-87)

Aproximadamente 20% da população mundial são tabagistas, sendo cerca de 800 milhões são homens e 200 milhões são mulheres. (84)

Durante o século 20, o tabagismo contribuiu para mais de 100 milhões de mortes no mundo. Apenas no ano de 2011, aproximadamente 6 milhões de pessoas morreram por doenças relacionadas ao uso de tabaco, liderando mundialmente a causa subjacente de mortalidade, superando a soma das doenças de síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), tuberculose e malária. Cerca de 80% dessas

mortes ocorreram em países classificados como de médio e baixo desenvolvimento.(88)

Fumantes, em média, perdem de um terço a metade de sua expectativa de vida, morrendo cerca de 14 anos antes dos não fumantes. (88) Além disso, o uso de tabaco também causa malefícios aos não tabagistas que estão expostos à fumaça passiva do cigarro. Estima-se que, anualmente, morrem cerca de 600.000 indivíduos devido a essa exposição, sendo que 75% ocorrem entre mulheres e crianças. (84)

O hábito do tabagismo vem crescendo, praticamente, em todo o mundo, cuja situação foi relatada em 124 países. Em relação à produção mundial, atualmente existem 3.8 milhões de hectares para produção de folha de tabaco. A China é responsável por 43% da produção mundial de cigarros, o que é maior do que a produção combinada dos próximos 9 países subsequentes: Brasil, Índia, Estados Unidos, Indonésia, Turquia, Zimbábue, Argentina, Paquistão e Malavi. (84)

No Canadá, país onde foi realizada a coleta de dados desse estudo, no ano de 1965, quase metade da população adulta era compostas por fumantes. Até 2012, esta taxa caiu para a 20%. Apesar da queda, mais de seis milhões de canadenses ainda fumam.

No Brasil, segundo país entre os maiores produtores, o tabagismo ainda é um problema grave de saúde pública, ainda que haja tendência de decréscimo importante da frequência de fumantes. O Vigitel, estudo de base populacional realizado nas principais capitais estaduais e Distrito Federal, estimou, no ano de 2012, variação de prevalência do tabagismo entre 4-19%, conforme a capital, enquanto no conjunto da população global, a frequência de fumantes foi de 12,1%, sendo 15,5% do total de homens e 9,2% das mulheres. (89)

Naquele estudo, foi verificado que alguns reconhecidos fatores de risco para o tabagismo, como baixo nível socioeconômico e educacional, estavam em contradição com o padrão tabágico da população de determinadas regiões do Brasil. Assim, Porto Alegre, cidade conhecida por apresentar tais índices em patamares elevados em relação a outras capitais do país, apresenta alta frequência de fumantes adultos (18,2%) em contraste com a taxa de 6,3% encontrada em Salvador, capital conhecida pela condição inferior em relação aos mesmos índices socioeconômicos e educacionais mencionados. (89)

É possível que esteja ocorrendo algum tipo de interferência ainda não bem documentada, com o papel da dieta neste fenômeno, levando em consideração os costumes locais de alimentação. Sendo assim, na busca de melhor compreensão entre aspectos referentes ao tabagismo e o consumo alimentar, foco desse trabalho, algumas interações de ácidos graxos específicos com o hábito de fumar serão exploradas nas seções seguintes.

2.4.2 Interação do Tabagismo na Função Cerebral

Para melhor compreensão da relação entre ômega-3 e tabagismo em suas ligações com o sistema nervoso central (SNC), faz-se necessário entender os mecanismos de interação entre o tabagismo e a função cerebral.

O efeito aditivo do tabagismo no cérebro se dá através da nicotina. Essa substância leva aproximadamente 7-10 segundos para chegar ao cérebro, e por ligar-se aos receptores acetilcolinérgicos do tipo nicotínico (nAChRs), ocasiona efeitos diretos, liberando uma variedade de neurotransmissores. Dessa forma, altera o funcionamento do SNC e provoca mudanças no humor, em funções cognitivas, afetivas e comportamentais. (90-97)

Devido ao fato do ômega-3 também possuir papel importante nos mecanismos das funções cerebrais, assim como na permeabilidade celular e neurotransmissão, podendo afetar o humor e funções cognitivas (explicado em seções anteriores), faz-se necessário o melhor entendimento da interação do tabagismo com os ácidos graxos, especialmente da família ômega-3. Na seção seguinte serão abordados alguns mecanismos dessa relação.

2.4.3 Tabagismo e Ácidos Graxos

Além dos efeitos do ômega-3, citados anteriormente, destaca-se a relação contrária desta família de substâncias com o tabagismo, já que fumantes apresentam mais baixos níveis de ômega-3 quando comparados à não fumantes. Assim, conforme o hábito tabágico, existem três hipóteses que podem explicar esta relação: diferenças de opção no perfil de consumo alimentar; distinto metabolismo de PUFA's e ação do ômega-3 na função cerebral, interferindo na neurotransmissão. O melhor entendimento desta relação poderá elucidar mecanismos de ação do

ômega-3 no tabagismo ou vice-versa, e assim, facilitar o desenvolvimento de futuros tratamentos e intervenções dessa doença.

O tabagismo pode influenciar a absorção, metabolismo e síntese dos ácidos graxos com as primeiras demonstrações tendo sido reportadas no final dos anos 1990s. (5, 24) O uso de cigarros, bem como o consumo de álcool, foram então independentemente associados às alterações de níveis séricos de diferentes ácidos graxos. (27, 29)

Desse modo, o tabagismo seria fator de risco para doenças cardíacas, em parte, através dos seus efeitos nos ácidos graxos que, por consequência, interfere nos níveis séricos de colesterol e fosfolipídios. (24) Essas modificações também na coagulação sanguínea, e por sua vez, no risco para tais doenças cardiovasculares. (15, 98, 99) Parte do aumento dos riscos para doenças coronarianas relacionado ao tabagismo seria, portanto, resultado de mudanças dos níveis de lipídeos e lipoproteínas. (100, 101)

Devido ao fato dos PUFAs serem altamente suscetíveis à oxidação por radicais livres (33, 102, 103), o hábito de fumar diminui suas concentrações no plasma e nas hemácias. Isso ocorre devido à constante demanda por PUFAs na reposição da membrana celular e na neutralização das perdas que ocorrem através da peroxidação. Assim, fumar leva ao aumento da síntese de PUFAs de cadeia longa através da contribuição adicional na carga oxidativa sistêmica. (19, 24) Além de o tabagismo aumentar todo esse processo oxidativo dos PUFAs, também altera o processo de síntese e metabolização dessas substâncias.

Em consequência, detectam-se níveis sanguíneos de ômega-3, mais baixos em fumantes do que em não fumantes. (5, 24, 27) Essas concentrações mais baixas de ômega-3 prejudicam a integridade e fluidez da membrana celular, afetando especialmente a neurotransmissão. (2, 43, 72)

A deficiência de ômega-3 causa desaceleração das vias dopaminérgicas (104), neurotransmissor associado a mecanismos de recompensas e dependência. Com isso, contribui para o surgimento, ou agravamento, da fissura por cigarros (105, 106), dificultando a cessação do tabagismo. (29)

Os estudos que examinaram o efeito do tabagismo nos PUFAs não analisaram o padrão alimentar, levando a possível dificuldade na busca de

associações, devido a eventuais diferenças de fontes e quantidade de alimentos consumidos entre fumantes e não fumantes. (19) Por isso, a importância de realizar-se investigação da relação do consumo de ômega-3 em delineamento que considere a ingestão de alimentos-fonte desta família de substâncias.

A possibilidade da dieta modular a capacidade cognitiva do indivíduo pode ter implicações de longo prazo, pois, muitas vezes, os efeitos nutricionais são transmitidos ao longo de gerações, influenciando até mesmo eventos epigenéticos.(61)

Além da melhor compreensão desta relação tabagismo/ômega-3, o estudo sobre o consumo alimentar aumenta o foco para a importância do padrão dietético, uma rotina facilmente modulável.

Através da ingestão dietética apropriada, os efeitos positivos do ômega-3 poderiam ser estendidos à população em geral, talvez até atuando positivamente no tratamento do tabagismo. (73)

3 JUSTIFICATIVA

A relação entre tabagismo e os níveis séricos de ômega-3 ainda é controversa e insuficientemente explorada. Este estudo pretende, ao observar a ingestão alimentar entre os grupos de fumantes e não fumantes, especialmente destas substâncias, contribuir para o entendimento de alguns aspectos deste tópico.

4 HIPÓTESE

H0: Fumantes e não fumantes apresentam padrão semelhante de consumo alimentar em relação ao ômega-3.

H1: Fumantes e não fumantes apresentam padrão diferente de consumo alimentar em relação ao ômega-3.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a relação dos ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 com tabagismo.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar o consumo de alimentos ricos em ômega-3 entre fumantes e não fumantes;
 2. Comparar o nível sérico dos ácidos graxos poli-insaturados entre fumantes e não fumantes;
 3. Estudar a relação do nível sérico dos ácidos graxos poli-insaturados com a carga tabágica;
 4. Estudar a relação do nível sérico dos ácidos graxos poli-insaturados em tabagistas com o nível de dependência de nicotina.
-

6 METODOLOGIA

6.1 PROCEDIMENTOS

Em delineamento de estudo transversal controlado, foram incluídos pacientes tabagistas (grupo I) e não tabagistas (grupo II).

Os participantes do grupo I foram recrutados através do Serviço de abandono ao Tabagismo do Toronto Western Hospital e do Centre for Addiction and Mental Health – Toronto/Canadá. Esses participantes foram incluídos logo após a primeira consulta médica, quando ainda não tinham realizado modificações no hábito de fumar. O grupo II foi composto por voluntários não fumantes, provenientes do grupo de funcionários dos mesmos serviços e comunidade externa em geral.

Todos os participantes foram esclarecidos quanto aos objetivos e procedimentos do estudo e assinaram consentimento informado, como primeiro procedimento (Anexo 1).

A seguir, com o objetivo de obtenção de dados demográficos e informações sobre hábitos de vida, os voluntários completaram o Questionário Específico (anexo 2). Investigaram-se dados sobre tabagismo, ingestão de peixe, frutos do mar em geral, alimentos ricos em ômega-3, consumo alcoólico e atividade física.

A investigação sobre o consumo alimentar foi realizada através de método recordatório de três dias. Para adequada identificação dos alimentos, foram apresentadas aos participantes fotografias, dividindo-os a cada 100 gramas. Antes de serem fotografados, os alimentos foram preparados individualmente pela equipe do estudo. Sementes e oleaginosas, por serem alimentos não perecíveis, foram apresentados *in natura* aos participantes, também divididos a cada 100 gramas.

A aferição de peso e altura foi realizada para todos os participantes.

Os pacientes tabagistas responderam, também, ao Questionário de Fagerstrom para Dependência Nicotínica (Anexo 3).

Foi coletada amostra de sangue em tubo de 4 ml contendo ácido etileno diamino tetracético (EDTA) para avaliação do nível de ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3 através das hemácias. As amostras foram centrifugadas (910 X

g;10min) e as hemácias separadas do plasma. Em seguida congeladas na temperatura -80C.

As amostras foram analisadas no Laboratório de Análises da *University of Guelph - Canadá*. Para análise dos ácidos graxos, a amostra foi extraída, saponificada e transmetilada. Para a transmetilarização foi usado o Cromatógrafo 6890 (Supelco; 100m, 0.25 µm film thickness, 0.25-mm i.d.).

Os resultados foram apresentados em percentual da composição total de ácido graxos. (107).

6.2 ÉTICA

O presente protocolo foi aprovado, respectivamente, pela Comissão Científica da Faculdade de Medicina e Hospital São Lucas da PUCRS, pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da PUCRS, através do parecer 105.188 (Anexo 4) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UofT/UHN, através do parecer 12-0514BE (Anexo 5).

6.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Assinatura do termo de Consentimento Livre e esclarecido;
- Idade maior que 18 anos.

6.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Analfabetos;
 - Incapacidade de entender os procedimentos do estudo;
 - Portadores de distúrbios metabólicos;
 - Uso de suplementação de ômega-3;
-

- Grávidas ou lactentes;
- Portadores de câncer ou outras doenças graves.

6.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O tamanho da amostra foi previamente calculado para um nível de significância (erro tipo I) $\alpha=0,05$, poder estatístico de 90% e tamanho de efeito (E/S) $\geq 0,5$ na diferença entre as médias dos grupos em estudo.

Os dados categóricos foram expressos por contagens e percentuais. Dados quantitativos foram descritos por média e desvio-padrão, e, na presença de assimetria, foi utilizada a mediana e os valores mínimo e máximo.

As comparações de dados categóricos foram baseadas no teste do qui-quadrado ou no teste exato de Fisher, quando necessário. Para comparação dos dados quantitativos entre fumantes e não-fumantes, utilizou-se, inicialmente, o teste t de Student ou seu substituto não paramétrico (teste U de Mann-Whitney). Para a avaliação ajustada desta relação, trabalhou-se com análise de covariância (ANCOVA), no qual foram incluídas, além da classificação de tabagismo, as demais variáveis consideradas como potenciais confundidores (idade, gênero, escolaridade, índice de massa corporal, etnia, consumo de outros alimentos, consumo de álcool e realização de atividade física).

Para minimizar o impacto da ruptura dos pressupostos de normalidade dos dados, os mesmos receberam transformação logarítmica e foram apresentados através de média geométrica e razão de médias (MR).

A avaliação do tamanho das diferenças observadas entre as médias dos grupos foi feita pela medida de efeito η^2 (eta-quadrado), cuja escala de magnitudes pode ser interpretada de modo similar ao coeficiente de determinação (r^2) e encontra-se especificada no quadro 2. (108)

Para a busca da associação entre a carga tabágica e o nível de dependência nicotínica com consumo de alimentar de peixe utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman (r_s).

O nível de significância estatística adotado no estudo foi de $\alpha=0,05$. Os dados foram analisados com o programa SPSS versão 22.0 (Statistical Product and Service Solutions, Inc). (109)

Quadro 2 - Escala de magnitude de algumas medidas de efeito (força de associação) utilizadas neste estudo. (108, 109)

$ r ; r_s $	$r^2; \eta^2$	Magnitude
0,0 – 0,1	0,00 – 0,01	muito fraca
0,1 – 0,3	0,01 – 0,09	Fraca
0,3 – 0,5	0,09 – 0,25	Moderada
0,5 a 0,7	0,25 – 0,49	Forte
0,7 – 0,9	0,49 – 0,81	muito forte
> 0,9	> 0,81	quase perfeita

7 RESULTADOS

De acordo com o cálculo do tamanho da amostra e deixando uma margem de segurança para perdas e desvios, foram incluídos 50 voluntários em cada grupo.

A tabela 1 apresenta as características demográficas e hábitos da amostra estudada.

Os fumantes apresentaram média de idade maior (53,0 anos \pm 13,3) em relação a não fumantes (40,2 anos \pm 13,6), $P < 0,001$ e tiveram média de IMC significativamente maior (27,2kg/m² \pm 5,4) comparados aos não fumantes (24,2kg/m² \pm 3,7), $P = 0,002$.

Os grupos não apresentaram diferença significativa no que se refere a gênero, escolaridade, etnia, atividade física semanal e consumo de álcool.

A mediana e valores mínimos e máximos de consumo mensal de peixe nos grupos de não-fumantes e de fumantes, foram, respectivamente, de 800g (0-7740) e de 430g (0-2150) $P < 0,001$. Essa diferença de consumo pode ser analisada na Tabela 1 e visualizada na Figura 4.

Tabela 1 - Características e hábitos dos participantes, n=100.

	Fumantes, n=50	Não Fumantes, n=50	P
Idade, anos (SD)*	53,0 (\pm 13,3)	40,2 (\pm 13,6)	<0,001
Gênero Feminino, n (%)**	25 (50)	31 (62)	0,31
Escolaridade \geq 9 anos**	36 (72)	39 (78)	0,65
Índice massa corporal, kg/m ²	27,2 (\pm 5,4)	24,2(\pm 3,7)	0,002
Etnia Caucasiana**	48 (96)	41(82)	0,10
Atividade Física Semanal***	0,0 (0 - 7)	2,3 (0 - 7)	0,81
Hábitos Alimentares***			
Consumo de Peixe	430 (0 - 2150)	800 (0 - 7740)	<0,001
Consumo de Camarão	50 (0 - 1290)	100 (0 - 1500)	0,13
Consumo de Lula	0,0 (0 - 100)	0,0 (0 - 875)	0,11
Consumo de Sushi	0,0 (0 - 1720)	100 (0 - 2500)	0,06
Consumo de Linhaça	0,0 (0 - 172)	0,0 (0 - 194)	0,68
Consumo de Nozes	0,0 (0 - 455)	0,0 (0 - 645)	0,33
Consumo de Oleaginosas	25 (0 - 4515)	129 (0 - 8600)	0,13
Consumo de Granola	0,0 (0 - 1505)	0,0 (0 - 6020)	0,96
Consumo de Álcool	130 (407 - 1050)	136 (407 - 568)	0,34

Consumo alimentar em gramas por mês.

*Dados apresentados em média \pm SD;

**Dados apresentados em frequência (%);

***Dados apresentados em mediana (mínima e máxima).

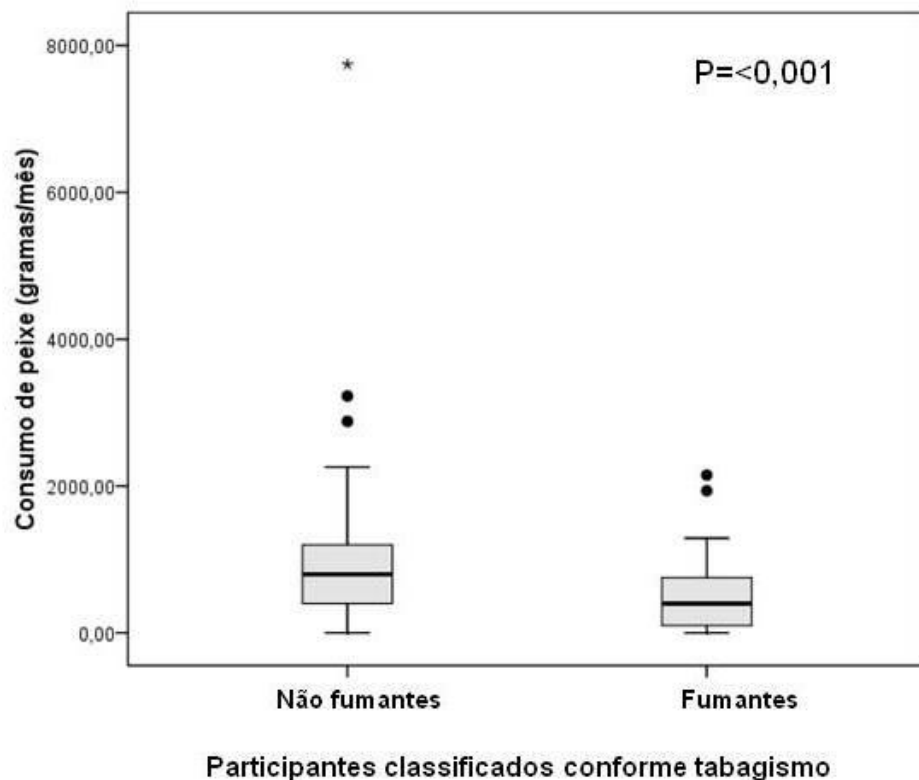


Figura 4 – Consumo de peixe em não fumantes e fumantes

Resultados

Na tabela 2, estão apresentados os percentuais dos ácidos graxos estudados, pertencentes ao grupo ômega 3, em relação à composição total de ácidos graxos. Apenas o DHA (PUFA 22:6) apresentou diferença significativa entre os dois grupos, tendo sido de 4.13% (IC95% 2,33 – 7,73) e de 4,81% (IC95% 2,79 – 10,1), $P=0,002$, nos fumantes e não fumantes, respectivamente.

Os índices de ômega-3 encontrados foram de 5,95 (2,91- 11,7) e de 5.00 (2,68 – 9,86), $P=0,011$, em não-fumantes e fumantes, respectivamente. Essa diferença está ilustrada através da figura 5. Em relação aos demais PUFAs avaliados, não houve diferença significativa entre os grupos.

Tabela 2 - Percentuais de PUFAS da família ômega-3 em relação ao total de ácidos graxos na amostra estudada

Codificação	Nomenclatura do ácido graxo	Fumantes(n=50)	Não Fumantes(n=50)	P
18:3	Alpha-linolênico	0,32 (0 – 0,85)	0,26 (0 – 0,66)	0,36
20:5	Eicosapentaenóico	0,95 (0,35 – 2,24)	1,06 (0,13 – 2,93)	0,94
22:5	Docosapentaenoico	2,29 (1,43 – 3,45)	2,26 (1,64 – 3,17)	0,86
22:6	Docosahexaenoico	4,13 (2,33 – 7,73)	4,81 (2,79 – 10,21)	0,002

Os dados estão apresentados em porcentagem mediana (mínima e máxima).

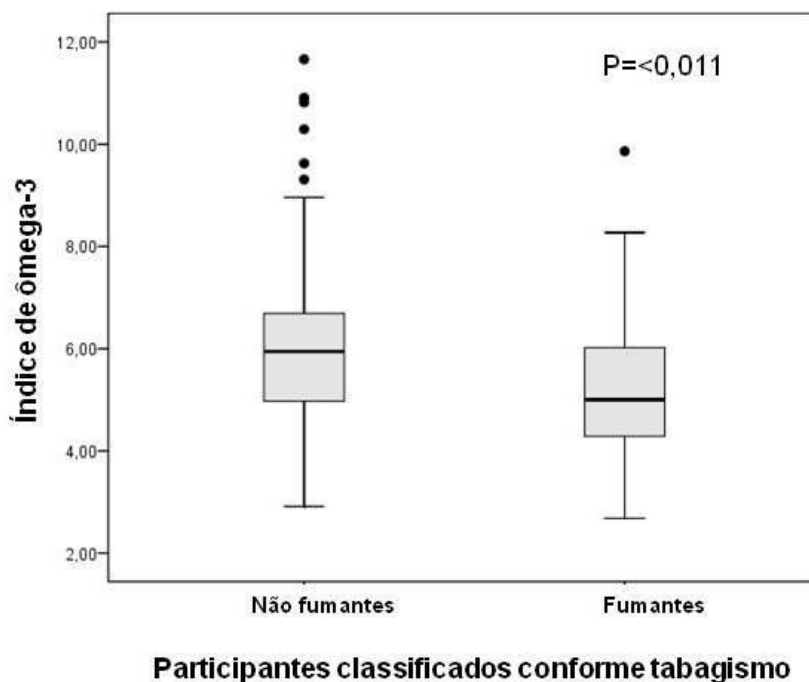


Figura 5 - Índice de Ômega-3

Resultados

Para a avaliação da relação do consumo mensal de peixe com o tabagismo foi realizada regressão univariada e multivariada, demonstradas na tabela 3. Na univariada, o índice de correlação entre fumantes e não fumantes com consumo de peixe foi de 2,16, $P=0,001$, $\eta^2=0,10$, demonstrando relação de magnitude moderada. Após ajuste para possíveis confundidores como idade, gênero, escolaridade, IMC, etnia, consumo de outros alimentos, consumo de álcool e realização de atividade física, a correlação entre fumantes e não fumantes com consumo semanal de peixe passou a ser 2,03, $P=0,02$, $\eta^2=0,07$.

Tabela 3 - Consumo de peixe entre fumantes e não fumantes
sob análise univariada e multivariada

	Fumantes	Não Fumantes	MR*	IC95%	P	η^2 **
Não Ajustada	276	598	2,16	1,36 – 3,45	0,001	0,10
Ajustada***	333	676	2,03	1,09 – 3,78	0,026	0,07

Dados apresentados em média geométrica de consumo mensal de peixe, em gramas;

* MR: razão de médias geométricas de não fumantes para fumantes;

** η^2 ETA Square - tamanho do efeito da análise de covariância;

***Ajuste para idade, gênero, escolaridade, IMC, consumo de outros alimentos, consumo de álcool e realização de atividade física semanal.

Foi analisado o consumo dos diferentes tipos de peixes nos dois grupos e se observou diferença significativa apenas em relação à ingestão de salmão, já que 52% e 18% dos não fumantes e dos fumantes ($P= 0,025$), respectivamente, têm esse alimento em sua dieta pelo menos uma vez por mês. A ingestão dos demais tipos de peixe não apresentou diferença significativa (Tabela 4).

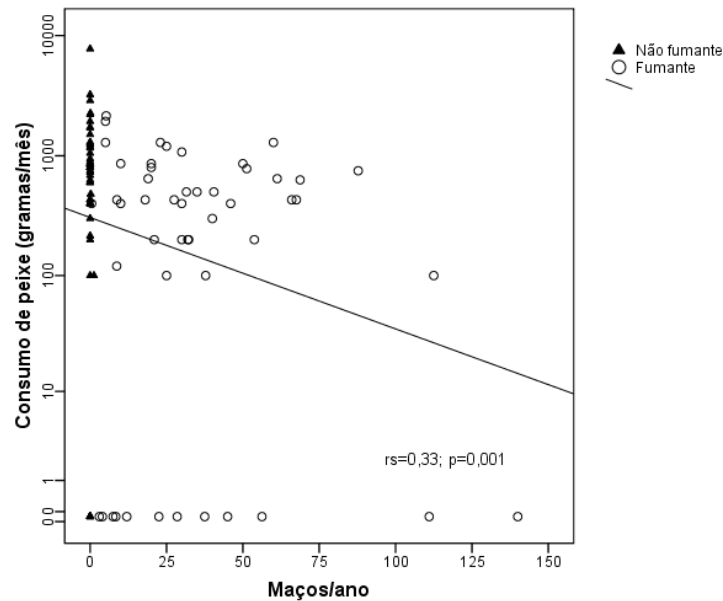
Tabela 4 - Porcentagem de consumo de tipos de peixe entre fumantes e não fumantes

Peixe	Fumantes(n=50)	Não Fumantes(n=50)	P
Salmão	14 (28,0)	26 (52,0)	0,025
Truta	2 (4,0)	5 (10,0)	0,436
Atum	8 (16,0)	8 (16,0)	1,000
Hadock	0 (0,0)	3 (6,0)	0,242
Tilápia	0 (0,0)	4 (8,0)	0,117
Todos os tipos	14 (28,0)	15 (30,0)	1,000
Outros	7 (14,0)	16 (32,0)	0,057

Dados apresentados em frequência (%).

Resultados

Foi estudada, também, a relação do consumo mensal de peixe com a carga tabágica (Figura 6). A figura 6a demonstra os dados referentes à amostra total de participantes, incluindo não fumantes, considerando-os como carga tabágica zero. O coeficiente de correlação foi de $r_s=0,033$, $P=0,001$. Para a amostra de fumantes, isoladamente (Figura 6b), o coeficiente de correlação foi de $r_s= - 0,05$, não mantendo significância estatística ($P=0,74$).



6a – Amostra geral

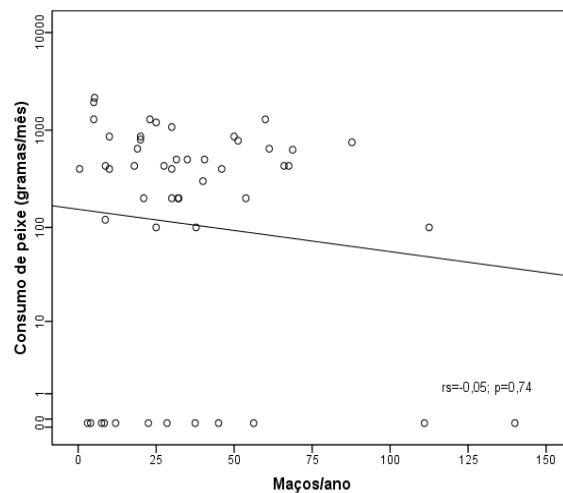


Figura 6b – Fumantes

Figura 6 - Consumo de peixe conforme tabagismo

Resultados

Da mesma maneira, através da pontuação no teste de Fargerstrom para dependência nicotínica, foi calculada a relação entre o consumo mensal de peixe e o nível de dependência à nicotina (Figura 7). A figura 7a ilustra o coeficiente de correlação da amostra geral $r_s = 0,030$, $P = 0,006$, onde os não-fumantes possuem pontuação Fargerstrom zero. O coeficiente de correlação apenas para os fumantes está demonstrado na figura 7b ($r_s = -0,01$), $P = 0,98$, não apresentando significância estatística.

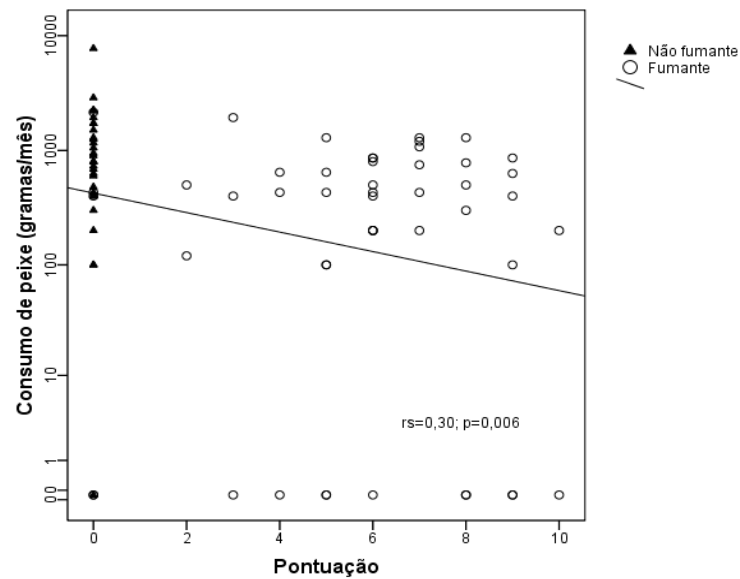


Figura 7a – Amostra geral

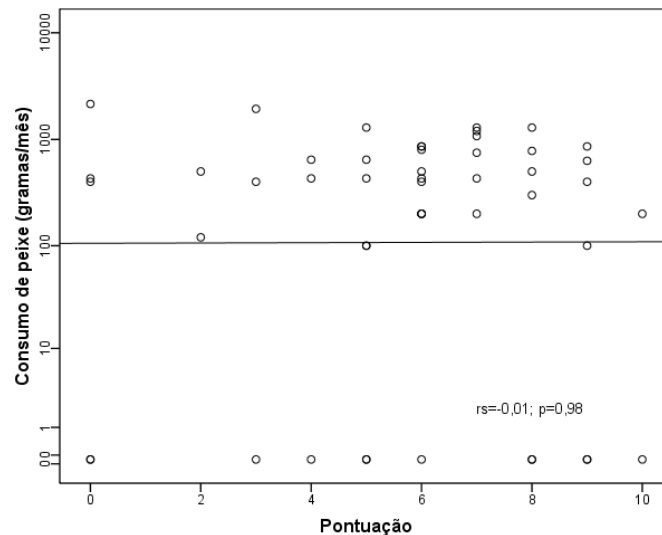


Figura 7b – Fumantes

Figura 7 – Consumo de peixe em relação ao nível de dependência de nicotina

8 DISCUSSÃO

Neste estudo, verificou-se que fumantes consomem quantidade significativamente menor de peixe e apresentaram concentração de DHA e índice de ômega-3 consideravelmente inferiores aos dos não fumantes. Apesar de EPA estar contido no índice de ômega-3, isoladamente, não apresentou diferença significativa entre os grupos. Esses resultados se mantiveram mesmo quando o consumo alimentar foi ajustado para vários fatores de confusão. Além disso, também foi possível observar que o consumo de peixe mostrou uma tendência de associação inversa com a quantidade de cigarros fumados e o nível de dependência à nicotina.

Esta relação inversa de tabagismo com concentrações sanguíneas mais baixas de PUFAS da família ômega-3 ainda é controversa, (30) porém, já havia sido levantada por Simon et al em 1996. (24) e por Pawlosky et al (27) em 1997. Entretanto, nesses estudos, não houve investigação sobre o padrão de consumo alimentar. Além disso, a eventual diferença de fontes e quantidade de alimentos consumidos entre os dois grupos não foi ajustada. A análise do consumo alimentar é um diferencial nos achados aqui relatados, uma vez que a rotina alimentar foi detalhadamente avaliada em cada um dos participantes e considerada nos ajustes na análise multivariada. (3, 19, 61)

A constatação da relação de proporção, de que quanto menor a quantidade de cigarros fumados maior era o consumo de peixe, ocorreu quando se estudaram os dados da amostra geral, incluindo o grupo de não fumantes (classificados como consumo zero de tabaco). Quando foram estudados apenas os fumantes e sua carga tabágica em relação ao consumo de DHA, verificou-se apenas tendência para a mesma associação inversa, possivelmente devido ao tamanho insuficiente da amostra para esta sub-análise.

Em estudo recente, Rabinovitz demonstrou que a administração diária de EPA e DHA em fumantes foi acompanhada por diminuição significativa no número

de cigarros fumados por dia e em episódios ânsia por tabaco. Informações que estão de acordo com os dados de ômega-3 relacionados à carga tabágica dessa amostra, apresentados acima. A explicação para esses eventos está relacionada às concentrações baixas de ômega-3, que podem afetar os mecanismos de recompensa e dependência e, assim, aumentar o desejo de fumar, inclusive ocasionando frustrantes tentativas de cessação do tabagismo. (106)

Neste estudo, além da ingestão de peixe, os demais alimentos ricos em ômega-3 estudados não apresentaram diferença de consumo significativa entre os dois grupos, possivelmente pelo fato de serem consumidos em menor quantidade e menor frequência pela amostra, em geral.

Quanto aos tipos de peixes, identificou-se, somente para ingestão de salmão, diferença entre fumantes e não fumantes, sendo que os não fumantes apresentaram hábito de maior frequência de consumo deste tipo de peixe. Esse achado está de acordo com as maiores concentrações séricas de ômega-3 encontrada nesse mesmo grupo, uma vez que a quantidade de DHA e EPA presente no salmão é a maior dentre todos os tipos de peixes aqui estudados. (110)

Existem várias possíveis explicações para baixo nível sérico de ômega-3 em humanos e suas possíveis consequências. Já foi apontado que a deficiência dietética de ômega-3 está associada a aumento de risco para diversos transtornos mentais ou comportamentais, incluindo o tabagismo (28, 29, 111-113)

Diferenças de estilos alimentares encontradas em determinadas regiões, influenciadas por padrões culturais, que têm como rotina o baixo consumo de alimentos ricos em ômega-3, poderiam ser apontadas como uma inferência para um fator de risco para tabagismo. Porém, por se tratar de uma possibilidade, esse tópico precisaria de estudos específicos para comprovação.

Além da diferença do consumo alimentar, existem outras hipóteses que podem interferir nessa relação e contribuir para o entendimento quanto aos menores níveis séricos de ômega-3 em tabagistas. São elas a diferença de metabolismo e interferência na neurotransmissão.

Sabidamente, o uso de tabaco aumenta o processo oxidativo dos PUFA's, promovendo um conjunto de ações mediadas por radicais livres. O fato de serem altamente suscetíveis à oxidação pode explicar os níveis sanguíneos mais baixos de

ômega-3 em fumantes, já que há maior demanda na reposição da membrana celular e na neutralização das perdas que ocorrem através da peroxidação. (102)

Quanto ao efeito de neurotransmissão, é importante que se explore mais a relação de tabagismo/ômega-3, já que tanto o consumo de cigarros quanto o de PUFA resultam em interferências importantes na função cerebral, nas quais, hipoteticamente, os efeitos poderiam interferir no consumo de uma ou de outra substância. O tabagismo tem ação no cérebro principalmente através da nicotina que, ao se ligar aos receptores acetilcolinérgicos do tipo nicotínico (nAChRs), promove liberação de inúmeros neurotransmissores resultando em efeitos gratificantes. No entanto, vários mecanismos neurobiológicos subjacentes não estão ainda totalmente compreendidos, pois outras rotas estão envolvidas na neurotransmissão. (90, 92, 95) Já o ômega-3 está envolvido em diversas funções cerebrais, incluindo a de manter e ajudar no suporte da transdução de sinal. (43, 51)

O papel da cadeia alimentar nestes intrincados mecanismos ainda precisa de melhor avaliação e a interferência do tabagismo na absorção, metabolismo e síntese dos ácidos graxos é uma possibilidade a ser considerada. (24) Redes cerebrais que são associadas com o controle de alimentação estão, também, intimamente associadas com aquelas que estão envolvidos no processamento de emoções, recompensa e cognição. Assim, uma possível liberação de neurotransmissores específicos, através do tabagismo ou da alimentação, poderia vir a interferir na escolha dos alimentos a serem consumidos ou mesmo na indução ao hábito e à quantidade de cigarros fumados. (61, 106)

Ainda deve ser considerada a ação do DHA na plasticidade neural e cognição cerebral, cujos mecanismos apenas começam a ser elucidados. Já se tem a constatação de que o DHA pode melhorar a capacidade cognitiva ao facilitar a plasticidade sináptica. (62, 69) A melhoria da capacidade cognitiva está ligada à diminuição de riscos para doenças neurológicas e psiquiátricas, nas quais o tabagismo pode estar envolvido. (28, 53)

A todas estas possibilidades, poderia se associar o tabagismo com a opção individual por um estilo de vida menos cuidadoso com a saúde, entre elas o menor consumo de peixes e de outros alimentos ricos em ácidos graxos não saturados, sedentarismo e obesidade. (114)

Quanto às características demográficas, a amostra de não fumantes foi consideravelmente mais jovem do que a fumante. Esta característica pode ser explicada pela tendência importante de decréscimo da frequência de tabagistas e, em muitos casos, pessoas que se iniciaram no tabagismo há várias décadas, quando o conhecimento dos malefícios não era difundido suficientemente à população em geral.(88, 89)

Outra característica da amostra estudada é o fato de fumantes apresentarem valores mais elevados de IMC. A relação entre tabagismo e peso corporal vem sendo estudada. Fumantes em geral, têm menor IMC e tendem a ter menor peso corporal do que os não fumantes, pareados por sexo e idade. Porém, Rodanelli et al.(53) demonstraram que níveis séricos maiores de ômega-3 estão associados positivamente à melhor qualidade de vida, tanto em relação ao comportamento de não fumar quanto à busca de padrões de IMC recomendados, o que poderia justificar o achado neste estudo. Assim, é razoável interligar a escolha de não fumar com uma tendência de hábitos de vida saudável. A opção por não fumar induz provavelmente ao mesmo tipo de preocupação com os malefícios causados pela elevação de massa corporal, adotando a prática de exercícios regulares e outros hábitos de vida saudáveis (85, 86, 115). Além disso, alguns estudos já vêm demonstrando que o hábito de fumar está associado com anormalidades do metabolismo, aumentando o risco para o desenvolvimento de síndrome metabólica, que está relacionada com aumento de peso e gordura corporal.(116-119) Em 2005, Saarni et al. estudaram através de acompanhamento de uma coorte, a associação de tabagismo na adolescência e sobrepeso ou excesso de gordura abdominal na vida adulta. O estudo reportou que o tabagismo é um fator de risco para acúmulo de gordura abdominal em ambos os sexos e sobrepeso em mulheres.(120) Outro ponto importante, que ajuda a explicar os resultados aqui encontrados, é o fato de fumantes terem maiores concentrações séricas de cortisol em jejum em relação aos não fumantes. O que poderia ser uma consequência da ativação da estimulação do sistema nervoso simpático, que é induzido pelo tabagismo.(121)

Contudo, é importante mencionar que nenhuma das diferenças de características entre os dois grupos, encontradas na amostra estudada, interferiu nos achados do estudo, uma vez que foi realizado ajuste na análise dos resultados.

9 CONCLUSÕES

Neste estudo, pôde-se verificar que:

1. Fumantes consomem quantidade significativamente menor de ômega-3 tanto em relação à quantidade quanto ao tipo de alimento (peixe) consumido, quando comparados aos não fumantes.
2. Independente de demais fatores, fumantes apresentaram níveis séricos de DHA e índice de ômega-3 mais baixos do que não fumantes.
3. Foi possível observar que o consumo mensal de peixe teve associação inversa na relação com a carga tabágica na amostra total, ou seja, quanto maior a quantidade de peixe consumida menor o número de cigarros fumados. Quando estes dados foram isoladamente analisados para o grupo de fumantes, não se detectou significância, apenas tendência estatística de relação inversa.
4. Foi possível observar que o consumo mensal de peixe teve associação inversa na relação com dependência nicotínica na amostra total, ou seja, quanto maior a quantidade de peixe consumida menor a pontuação no teste de Fagerstrom. Quando foram analisados estes dados isoladamente para o grupo de fumantes, não se detectou apenas tendência a significância estatística de relação inversa.

Assim, estes resultados poderão contribuir para o esclarecimento da importância do consumo alimentar e nível de ômega 3 em relação ao tabagismo, tema ainda controverso e pouco explorado. Pelo que pudemos investigar, este achado ainda não tinha sido demonstrado com o ajuste do consumo alimentar. Considerando que o padrão alimentar é um comportamento modulável, e dada a

Conclusões

condição de que os resultados iniciais sejam confirmados, abre-se margem para a criação que um novo aliado no tratamento ou na prevenção do tabagismo.

10 REFERÊNCIAS

1. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci*. 2000;18(4-5):383-99.
 2. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging*. 2002;23(5):843-53.
 3. Tur JA, Bibiloni MM, Sureda A, Pons A. Dietary sources of omega 3 fatty acids: public health risks and benefits. *Br J Nutr*. 2012;107 Suppl 2:S23-52.
 4. Crawford MA, Bloom M, Broadhurst CL, Schmidt WF, Cunnane SC, Galli C, et al. Evidence for the unique function of docosahexaenoic acid during the evolution of the modern hominid brain. *Lipids*. 1999;34 Suppl:S39-47.
 5. Knapp HR. Omega-3 fatty acids in respiratory diseases: a review. *J Am Coll Nutr*. 1995;14(1):18-23.
 6. Rangel-Huerta OD, Aguilera CM, Mesa MD, Gil A. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: a systematic review of randomised clinical trials. *Br J Nutr*. 2012;107 Suppl 2:S159-70.
 7. Li J, Xun P, Zamora D, Sood A, Liu K, Daviglius M, et al. Intakes of long-chain omega-3 (n-3) PUFAs and fish in relation to incidence of asthma among American young adults: the CARDIA study. *Am J Clin Nutr*. 2013;97(1):173-8.
 8. Celli BR, Locantore N, Yates J, Tal-Singer R, Miller BE, Bakke P, et al. Inflammatory biomarkers improve clinical prediction of mortality in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;185(10):1065-72.
 9. Lukacs NW, Hogaboam CM, Kunkel SL. Chemokines and their receptors in chronic pulmonary disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005;4(3):313-7.
 10. Haworth O, Levy BD. Endogenous lipid mediators in the resolution of airway inflammation. *Eur Respir J*. 2007;30(5):980-92.
 11. Novgorodtseva TP, Denisenko YK, Zhukova NV, Antonyuk MV, Knyshova VV, Gvozdenko TA. Modification of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases. *Lipids Health Dis*. 2013;12:117.
-

12. Duda MK, O'Shea KM, Tintinu A, Xu W, Khairallah RJ, Barrows BR, et al. Fish oil, but not flaxseed oil, decreases inflammation and prevents pressure overload-induced cardiac dysfunction. *Cardiovasc Res.* 2009;81(2):319-27.
 13. Koletzko B, Lien E, Agostoni C, Böhles H, Campoy C, Cetin I, et al. The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *J Perinat Med.* 2008;36(1):5-14.
 14. Okamoto Y, Okano K, Izuishi K, Usuki H, Wakabayashi H, Suzuki Y. Attenuation of the systemic inflammatory response and infectious complications after gastrectomy with preoperative oral arginine and omega-3 fatty acids supplemented immunonutrition. *World J Surg.* 2009;33(9):1815-21.
 15. Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. Long chain omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: a systematic review. *Br J Nutr.* 2012;107 Suppl 2:S201-13.
 16. Morris MC, Evans DA, Tangney CC, Bienias JL, Wilson RS. Fish consumption and cognitive decline with age in a large community study. *Arch Neurol.* 2005;62(12):1849-53.
 17. Moriguchi T, Greiner RS, Salem N. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J Neurochem.* 2000;75(6):2563-73.
 18. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma.* 2004;21(10):1457-67.
 19. Hibbeln JR, Makino KK, Martin CE, Dickerson F, Boronow J, Fenton WS. Smoking, gender, and dietary influences on erythrocyte essential fatty acid composition among patients with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Biol Psychiatry.* 2003;53(5):431-41.
 20. Grosso G, Pajak A, Marventano S, Castellano S, Galvano F, Bucolo C, et al. Role of omega-3 fatty acids in the treatment of depressive disorders: a comprehensive meta-analysis of randomized clinical trials. *PLoS One.* 2014;9(5):e96905.
 21. Janssen CI, Kiliaan AJ. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to senescence: the influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration. *Prog Lipid Res.* 2014;53:1-17.
 22. Wilczyńska A. [Fatty acids in treatment and prevention of depression]. *Psychiatr Pol.* 2013;47(4):657-66.
 23. Hamazaki K, Hamazaki T, Inadera H. Abnormalities in the fatty acid composition of the postmortem entorhinal cortex of patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Psychiatry Res.* 2013;210(1):346-50.
-

Referências

24. Simon JA, Fong J, Bernert JT, Browner WS. Relation of smoking and alcohol consumption to serum fatty acids. *Am J Epidemiol.* 1996;144(4):325-34.
 25. Sharp DS, Rodriguez BL, Shahar E, Hwang LJ, Burchfiel CM. Fish consumption may limit the damage of smoking on the lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150(4):983-7.
 26. Shahar E, Boland LL, Folsom AR, Tockman MS, McGovern PG, Eckfeldt JH. Docosahexaenoic acid and smoking-related chronic obstructive pulmonary disease. The Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;159(6):1780-5.
 27. Pawlosky RJ, Hibbeln JR, Salem N. Compartmental analyses of plasma n-3 essential fatty acids among male and female smokers and nonsmokers. *J Lipid Res.* 2007;48(4):935-43.
 28. Freeman MP, Hibbeln JR, Wisner KL, Davis JM, Mischoulon D, Peet M, et al. Omega-3 fatty acids: evidence basis for treatment and future research in psychiatry. *J Clin Psychiatry.* 2006;67(12):1954-67.
 29. Zaparoli JX, Galduróz JC. Treatment for tobacco smoking: a new alternative? *Med Hypotheses.* 2012;79(6):867-8.
 30. Kim YJ, Jeong DW, Lee JG, Lee HC, Lee SY, Yi YH, et al. Omega-3 index and smoking in patients with acute ST-elevation myocardial infarction taking statins: a case-control study in Korea. *Lipids Health Dis.* 2012;11:43.
 31. Siriwardhana N, Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. Health benefits of n-3 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Adv Food Nutr Res.* 2012;65:211-22.
 32. Jiloha RC. Biological basis of tobacco addiction: Implications for smoking-cessation treatment. *Indian J Psychiatry.* 2010;52(4):301-7.
 33. Spitale RC, Cheng MY, Chun KA, Gorell ES, Munoz CA, Kern DG, et al. Differential effects of dietary supplements on metabolomic profile of smokers versus non-smokers. *Genome Med.* 2012;4(2):14.
 34. Koolman J, Rohm K. *Color Atlas of Biochemistry.* 3 ed. New York: Thieme; 2012.
 35. Campbell MK. *Bioquímica.* 3 ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul; 2000.
 36. Santos RD, Gagliardi AC, Xavier HT, Magnoni CD, Cassani R, Lottenberg AM, et al. [First guidelines on fat consumption and cardiovascular health]. *Arq Bras Cardiol.* 2013;100(1 Suppl 3):1-40.
 37. Moreira N, Curi R, Mancini J. Ácidos graxos: Uma revisão. *Nutrire: Rev Soc Bras Aliment Nutrição;* 2002. p. 105-23.
 38. Burghardt PR, Kemmerer ES, Buck BJ, Osetek AJ, Yan C, Koch LG, et al. Dietary n-3:n-6 fatty acid ratios differentially influence hormonal signature in a
-

- rodent model of metabolic syndrome relative to healthy controls. *Nutr Metab (Lond)*. 2010;7:53.
39. Goodstine SL, Zheng T, Holford TR, Ward BA, Carter D, Owens PH, et al. Dietary (n-3)/(n-6) fatty acid ratio: possible relationship to premenopausal but not postmenopausal breast cancer risk in U.S. women. *J Nutr*. 2003;133(5):1409-14.
 40. Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*. 2002;56(8):365-79.
 41. Wan JB, Huang LL, Rong R, Tan R, Wang J, Kang JX. Endogenously decreasing tissue n-6/n-3 fatty acid ratio reduces atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice by inhibiting systemic and vascular inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(12):2487-94.
 42. Fetterman JW, Zdanowicz MM. Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. *Am J Health Syst Pharm*. 2009;66(13):1169-79.
 43. Bazan NG. Synaptic lipid signaling: significance of polyunsaturated fatty acids and platelet-activating factor. *J Lipid Res*. 2003;44(12):2221-33.
 44. Mateos H, Lewandowski P. The effect of replacing dietary fish oil with canola oil on fatty acid composition and expression of desaturase and elongase genes in Jade Tiger hybrid alone. *Food Chemistry*; 2012. p. 1217-22.
 45. Patterson E, Wall R, Fitzgerald GF, Ross RP, Stanton C. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. *J Nutr Metab*. 2012;2012:539426.
 46. Davis BC, Kris-Etherton PM. Achieving optimal essential fatty acid status in vegetarians: current knowledge and practical implications. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(3 Suppl):640S-6S.
 47. Gebauer SK, Psota TL, Harris WS, Kris-Etherton PM. n-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *Am J Clin Nutr*. 2006;83(6 Suppl):1526S-35S.
 48. Calder PC. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2008;79(3-5):101-8.
 49. Figueras M, Oliván M, Busquets S, López-Soriano FJ, Argilés JM. Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) treatment on insulin sensitivity in an animal model of diabetes: improvement of the inflammatory status. *Obesity (Silver Spring)*. 2011;19(2):362-9.
 50. Dyall SC, Michael GJ, Michael-Titus AT. Omega-3 fatty acids reverse age-related decreases in nuclear receptors and increase neurogenesis in old rats. *J Neurosci Res*. 2010;88(10):2091-102.
-

51. Cederholm T, Salem N, Palmblad J. ω -3 fatty acids in the prevention of cognitive decline in humans. *Adv Nutr.* 2013;4(6):672-6.
 52. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr Rev.* 2010;68(5):280-9.
 53. Rondanelli M, Giacosa A, Opizzi A, Pelucchi C, La Vecchia C, Montorfano G, et al. Long chain omega 3 polyunsaturated fatty acids supplementation in the treatment of elderly depression: effects on depressive symptoms, on phospholipids fatty acids profile and on health-related quality of life. *J Nutr Health Aging.* 2011;15(1):37-44.
 54. Kalupahana NS, Claycombe K, Newman SJ, Stewart T, Siriwardhana N, Matthan N, et al. Eicosapentaenoic acid prevents and reverses insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice via modulation of adipose tissue inflammation. *J Nutr.* 2010;140(11):1915-22.
 55. Astorg P. Dietary N-6 and N-3 polyunsaturated fatty acids and prostate cancer risk: a review of epidemiological and experimental evidence. *Cancer Causes Control.* 2004;15(4):367-86.
 56. Leitzmann MF, Stampfer MJ, Michaud DS, Augustsson K, Colditz GC, Willett WC, et al. Dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids and the risk of prostate cancer. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(1):204-16.
 57. Wu M, Harvey KA, Ruzmetov N, Welch ZR, Sech L, Jackson K, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids attenuate breast cancer growth through activation of a neutral sphingomyelinase-mediated pathway. *Int J Cancer.* 2005;117(3):340-8.
 58. Murphy RA, Mourtzakis M, Chu QS, Baracos VE, Reiman T, Mazurak VC. Nutritional intervention with fish oil provides a benefit over standard of care for weight and skeletal muscle mass in patients with nonsmall cell lung cancer receiving chemotherapy. *Cancer.* 2011;117(8):1775-82.
 59. Harris WS. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr.* 1997;65(5 Suppl):1645S-54S.
 60. Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, et al. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol.* 2006;36(3):485-501.
 61. Gómez-Pinilla F. Brain foods: the effects of nutrients on brain function. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(7):568-78.
 62. Pifferi F, Roux F, Langelier B, Alessandri JM, Vancassel S, Jouin M, et al. (n-3) polyunsaturated fatty acid deficiency reduces the expression of both isoforms of the brain glucose transporter GLUT1 in rats. *J Nutr.* 2005;135(9):2241-6.
-

63. Harris WS. The omega-3 index: clinical utility for therapeutic intervention. *Curr Cardiol Rep.* 2010;12(6):503-8.
 64. Superko HR, Superko SM, Nasir K, Agatston A, Garrett BC. Omega-3 fatty acid blood levels: clinical significance and controversy. *Circulation.* 2013;128(19):2154-61.
 65. Arana FS, Parkinson JA, Hinton E, Holland AJ, Owen AM, Roberts AC. Dissociable contributions of the human amygdala and orbitofrontal cortex to incentive motivation and goal selection. *J Neurosci.* 2003;23(29):9632-8.
 66. Thompson ME, Wrangham RW. Diet and reproductive function in wild female chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) at Kibale National Park, Uganda. *Am J Phys Anthropol.* 2008;135(2):171-81.
 67. Gibbons A. Paleoanthropology. Food for thought. *Science.* 2007;316(5831):1558-60.
 68. Salem N, Litman B, Kim HY, Gawrisch K. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids.* 2001;36(9):945-59.
 69. Bourre JM, Dumont O, Piciotti M, Clément M, Chaudière J, Bonneil M, et al. Essentiality of omega 3 fatty acids for brain structure and function. *World Rev Nutr Diet.* 1991;66:103-17.
 70. McCann JC, Ames BN. Is docosahexaenoic acid, an n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid, required for development of normal brain function? An overview of evidence from cognitive and behavioral tests in humans and animals. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(2):281-95.
 71. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Omega-3 fatty acids supplementation restores mechanisms that maintain brain homeostasis in traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2007;24(10):1587-95.
 72. Gomez-Pinilla F, Tyagi E. Diet and cognition: interplay between cell metabolism and neuronal plasticity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013;16(6):726-33.
 73. Pessoa L. On the relationship between emotion and cognition. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(2):148-58.
 74. van Gelder BM, Tijhuis M, Kalmijn S, Kromhout D. Fish consumption, n-3 fatty acids, and subsequent 5-y cognitive decline in elderly men: the Zutphen Elderly Study. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(4):1142-7.
 75. Su HM. Mechanisms of n-3 fatty acid-mediated development and maintenance of learning memory performance. *J Nutr Biochem.* 2010;21(5):364-73.
 76. Jansen D, Zerbi V, Arnoldussen IA, Wiesmann M, Rijpma A, Fang XT, et al. Effects of specific multi-nutrient enriched diets on cerebral metabolism, cognition and neuropathology in A β PP^{swe}-PS1^{dE9} mice. *PLoS One.* 2013;8(9):e75393.
-

77. Barceló-Coblijn G, Högyes E, Kitajka K, Puskás LG, Zvara A, Hackler L, et al. Modification by docosahexaenoic acid of age-induced alterations in gene expression and molecular composition of rat brain phospholipids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(20):11321-6.
 78. Hibbeln JR, Bissette G, Umhau JC, George DT. Omega-3 status and cerebrospinal fluid corticotrophin releasing hormone in perpetrators of domestic violence. *Biol Psychiatry*. 2004;56(11):895-7.
 79. Hamazaki T, Hamazaki K. Fish oils and aggression or hostility. *Prog Lipid Res*. 2008;47(4):221-32.
 80. Bradbury J, Myers SP, Oliver C. An adaptogenic role for omega-3 fatty acids in stress; a randomised placebo controlled double blind intervention study (pilot) [ISRCTN22569553]. *Nutr J*. 2004;3:20.
 81. Takeuchi T, Iwanaga M, Harada E. Possible regulatory mechanism of DHA-induced anti-stress reaction in rats. *Brain Res*. 2003;964(1):136-43.
 82. Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI. Mixture of essential fatty acids lowers test anxiety. *Nutr Neurosci*. 2005;8(4):265-7.
 83. Matsuoka Y, Nishi D, Yonemoto N, Hamazaki K, Hashimoto K, Hamazaki T. Omega-3 fatty acids for secondary prevention of posttraumatic stress disorder after accidental injury: an open-label pilot study. *J Clin Psychopharmacol*. 2010;30(2):217-9.
 84. Eriksen M, Mackay J, Ross H. *The Tobacco Atlas*. 4 ed. Atlanta: American Cancer Society; 2012.
 85. Balbani AP, Montovani JC. Methods for smoking cessation and treatment of nicotine dependence. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2005;71(6):820-7.
 86. Zaniewska M, Przegaliński E, Filip M. Nicotine dependence - human and animal studies, current pharmacotherapies and future perspectives. *Pharmacol Rep*. 2009;61(6):957-65.
 87. Simon JA, Hodgkins ML, Browner WS, Neuhaus JM, Bernert JT, Hulley SB. Serum fatty acids and the risk of coronary heart disease. *Am J Epidemiol*. 1995;142(5):469-76.
 88. Asma S, Song Y, Cohen J, Eriksen M, Pechacek T, Cohen N, et al. CDC Grand Rounds: global tobacco control. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2014;63(13):277-80.
 89. Saúde Md. VIGITEL - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. Brasil2013.
 90. Levin ED, McClernon FJ, Rezvani AH. Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006;184(3-4):523-39.
-

91. Novak G, LeBlanc M, Zai C, Shaikh S, Renou J, DeLuca V, et al. Association of polymorphisms in the BDNF, DRD1 and DRD3 genes with tobacco smoking in schizophrenia. *Ann Hum Genet.* 2010;74(4):291-8.
 92. Saccone SF, Hinrichs AL, Saccone NL, Chase GA, Konvicka K, Madden PA, et al. Cholinergic nicotinic receptor genes implicated in a nicotine dependence association study targeting 348 candidate genes with 3713 SNPs. *Hum Mol Genet.* 2007;16(1):36-49.
 93. Beuten J, Payne TJ, Ma JZ, Li MD. Significant association of catechol-O-methyltransferase (COMT) haplotypes with nicotine dependence in male and female smokers of two ethnic populations. *Neuropsychopharmacology.* 2006;31(3):675-84.
 94. Lang UE, Sander T, Lohoff FW, Hellweg R, Bajbouj M, Winterer G, et al. Association of the met66 allele of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) with smoking. *Psychopharmacology (Berl).* 2007;190(4):433-9.
 95. dos Santos VA, Chatkin JM, Bau CH, Paixão-Côrtes VR, Sun Y, Zamel N, et al. Glutamate and synaptic plasticity systems and smoking behavior: results from a genetic association study. *PLoS One.* 2012;7(6):e38666.
 96. Benowitz NL. Pharmacology of nicotine: addiction and therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1996;36:597-613.
 97. Gigliotti A, Presman S. *Atualização no Tratamento do Tabagismo.* Brasil: ABP - Saúde; 2006.
 98. Kitamura K, Shibata R, Tsuji Y, Shimano M, Inden Y, Murohara T. Eicosapentaenoic acid prevents atrial fibrillation associated with heart failure in a rabbit model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;300(5):H1814-21.
 99. Harris WS. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: a case for omega-3 index as a new risk factor. *Pharmacol Res.* 2007;55(3):217-23.
 100. Langer RD, Criqui MH, Reed DM. Lipoproteins and blood pressure as biological pathways for effect of moderate alcohol consumption on coronary heart disease. *Circulation.* 1992;85(3):910-5.
 101. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet.* 1992;339(8808):1523-6.
 102. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med.* 1995;332(18):1198-203.
 103. Nitta H, Kinoyama M, Watanabe A, Shirao K, Kihara H, Arai M. Effects of nutritional supplementation with antioxidant vitamins and minerals and fish oil on antioxidant status and psychosocial stress in smokers: an open trial. *Clin Exp Med.* 2007;7(4):179-83.
-

104. Zimmer L, Vancassel S, Cantagrel S, Breton P, Delamanche S, Guilloteau D, et al. The dopamine mesocorticolimbic pathway is affected by deficiency in n-3 polyunsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(4):662-7.
 105. Ahmad SO, Park JH, Radel JD, Levant B. Reduced numbers of dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta and ventral tegmental area of rats fed an n-3 polyunsaturated fatty acid-deficient diet: a stereological study. *Neurosci Lett.* 2008;438(3):303-7.
 106. Rabinovitz S. Effects of omega-3 fatty acids on tobacco craving in cigarette smokers: A double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study. *J Psychopharmacol.* 2014;28(8):804-9.
 107. Arendt BM, Mohammed SS, Aghdassi E, Prayitno NR, Ma DW, Nguyen A, et al. Hepatic fatty acid composition differs between chronic hepatitis C patients with and without steatosis. *J Nutr.* 2009;139(4):691-5.
 108. Hopinks W. A new view of statistics. 2000 [cited 2014 28May2014]; Available from: effectmag.html.
 109. Field A. *Discovering statistics using SPSS.* 3th ed: SAGE; 2009.
 110. Alimentação NNdEepe. *Tabela brasileira de composição de alimentos.* 4. ed. rev. e ampl ed. Campinas: UNICAMP; 2011.
 111. Adams PB, Lawson S, Sanigorski A, Sinclair AJ. Arachidonic acid to eicosapentaenoic acid ratio in blood correlates positively with clinical symptoms of depression. *Lipids.* 1996;31 Suppl:S157-61.
 112. Peet M, Laugharne JD, Mellor J, Ramchand CN. Essential fatty acid deficiency in erythrocyte membranes from chronic schizophrenic patients, and the clinical effects of dietary supplementation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1996;55(1-2):71-5.
 113. Hibbeln JR. Fish consumption and major depression. *Lancet.* 1998;351(9110):1213.
 114. Wennberg M, Tornevi A, Johansson I, Hörnell A, Norberg M, Bergdahl IA. Diet and lifestyle factors associated with fish consumption in men and women: a study of whether gender differences can result in gender-specific confounding. *Nutr J.* 2012;11:101.
 115. Aranceta J, Moreno B, Moya M, Anadón A. Prevention of overweight and obesity from a public health perspective. *Nutr Rev.* 2009;67 Suppl 1:S83-8.
 116. Cena H, Fonte ML, Turconi G. Relationship between smoking and metabolic syndrome. *Nutr Rev.* 2011;69(12):745-53.
 117. Nakanishi N, Takatorige T, Suzuki K. Cigarette smoking and the risk of the metabolic syndrome in middle-aged Japanese male office workers. *Ind Health.* 2005;43(2):295-301.
-

Referências

118. Miyatake N, Wada J, Kawasaki Y, Nishii K, Makino H, Numata T. Relationship between metabolic syndrome and cigarette smoking in the Japanese population. *Intern Med.* 2006;45(18):1039-43.
 119. Geslain-Biquez C, Vol S, Tichet J, Caradec A, D'Hour A, Balkau B, et al. The metabolic syndrome in smokers. The D.E.S.I.R. study. *Diabetes Metab.* 2003;29(3):226-34.
 120. Saarni SE, Pietiläinen K, Kantonen S, Rissanen A, Kaprio J. Association of smoking in adolescence with abdominal obesity in adulthood: a follow-up study of 5 birth cohorts of Finnish twins. *Am J Public Health.* 2009;99(2):348-54.
 121. Yoshida T, Sakane N, Umekawa T, Kogure A, Kondo M, Kumamoto K, et al. Nicotine induces uncoupling protein 1 in white adipose tissue of obese mice. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999;23(6):570-5.
-

ANEXOS

ANEXO 1 - CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR DA PESQUISA

University Health Network

CONSENT TO PARTICIPATE IN A RESEARCH STUDY**STUDY TITLE:** Lipid Metabolism and Smoking**INVESTIGATOR:** Dr. Noe Zamel**24 HOUR EMERGENCY NUMBER: (416)5431988****INTRODUCTION**

You are being asked to take part in a research study. Please read this explanation about the study and its risks and benefits before you decide if you would like to take part. You should take as much time as you need to make your decision. You should ask the study doctor or study staff to explain anything that you do not understand and make sure that all of your questions have been answered before signing this consent form. Before you make your decision, feel free to talk about this study with anyone you wish. Participation in this study is voluntary.

PURPOSE OF THE STUDY

The purpose of this study is to understand the relationship between omega-3 fatty acids and cigarette smoking.

One of these fatty acids is known as **Docosahexaenoic acid** referred to as DHA. DHA is a primary component of most organs in the body. These fatty acids are involved in brain functioning and there is a possibility that these fatty acids may be decreased in smokers.

It has been hypothesized that smoking can affect the way the body breaks down fatty acids (lipid metabolism), and therefore the possibility exists of a relationship between omega 3 fatty acid and smoking behaviour.

Anexo 1 - Consentimento para Participar da Pesquisa

In this study omega-3 fatty acids will be measured by collecting DHA in the serum of the blood sample.

This study has three objectives:

1. Assess the serum level of DHA (an omega-3 fatty acid) in smokers, ex-smokers and non-smokers.
2. Compare the serum levels of DHA in smokers, non-smokers and ex-smokers.
3. Relate the serum levels of DHA in smokers with tobacco consumption.

DESCRIPTION OF THE STUDY

There will be approximately 50 participants in each group. To take part in this study you must be older than 18 years and be a smoker, non smoker or ex-smoker.

The study will involve one visit that will take about one hour. During the visit you will do one or two questionnaires. All participants will complete the Specific Food Questionnaire to assess your food and alcohol consumption and the Fagerstrom Questionnaire will be done by smokers and ex-smokers to assess their cigarette use. Blood (approximately 4ml or 1 teaspoon) will be drawn from a vein in your arm.

STUDY PROCEDURES

- You will be asked to read and sign this consent form to confirm that you wish to participate in this study. Any questions or concerns you may have will be addressed.
- You will answer one or two questionnaires
- One blood sample will be taken

PATIENT'S RESPONSIBILITIES

If you agree and are selected to take part in this study, then it is very important that you provide accurate and complete information.

POTENTIAL RISKS, SIDE EFFECTS, AND DISCOMFORTS

The only risk associated with this study is that the blood sample may sometimes cause pain at the site where the blood is drawn, bruising, occasional lightheadedness

Anexo 1 - Consentimento para Participar da Pesquisa

and rarely, fainting. A small amount of blood (approximately 4ml or 1 teaspoon) will be drawn from a vein in your arm with a sterile needle.

POTENTIAL BENEFITS FROM THE STUDY

It is possible that you may not personally benefit from participating in this study, but even if there is no benefit to you, others, may benefit from what is learned in this study.

VOLUNTARY PARTICIPATION / WITHDRAWAL

Your participation in this study is voluntary. You may decide not to be in this study, or to be in the study now, and then change your mind later. You may leave the study at any time without affecting your care. You may refuse to answer any question you do not want to answer, or not answer an interview question by saying “pass”.

We will give you new information that is learned during the study that might affect your decision to stay in the study

EXPENSES ASSOCIATED WITH PARTICIPATING IN THE STUDY

There will be no cost to you for any expenses related to this study and you will not be reimbursed for taking part in this study.

IN CASE YOU ARE HARMED IN THE STUDY

If you become ill or physically injured as a result of participation in this study, medical treatment will be provided. The reasonable costs of such care will be covered for any injury, illness or harm that is directly a result of being in this study. In no way does signing this consent form waive your legal rights nor does it relieve the investigators, sponsors or involved institutions from their legal and professional responsibilities.

You do not give up any of your legal rights by signing this consent form.

CONFIDENTIALITY

If you agree to join this study, the study doctor and his/her study team will look at your personal health information and collect only the information they need for the study. Personal health information is any information that could be used to identify you and includes your:

Anexo 1 - Consentimento para Participar da Pesquisa

- name,
- address,
- date of birth,
- new or existing medical records, that includes types, dates and results of medical tests or procedures.

The information that is collected for the study will be kept in a locked and secure area by the study doctor for 7 years. Only the study team or the people or groups listed below will be allowed to look at your records. Your participation in this study also may be recorded in your medical record at this hospital.

Representatives of the University Health Network Research Ethics Board may look at the study records and at your personal health information to check that the information collected for the study is correct and to make sure the study followed proper laws and guidelines.

All information collected during this study, including your personal health information, will be kept confidential and will not be shared with anyone outside the study unless required by law. You will not be named in any reports, publications, or presentations that may come from this study.

If you decide to leave the study, the information about you that was collected before you left the study will still be used. No new information will be collected without your permission.

QUESTIONS ABOUT THE STUDY

If you have questions concerning the conduct of the study, or for any other reason you should contact the investigators Dr. Zamel at 416-318-6637 (mobile), Dr. Ivone Ferreira at 416-986-1505 (pager), Dr. Kenneth Chapman at 416-603-5430 or the Study Coordinator, Pearl Latty, at 416-603-5489 at ANY TIME.

If you have any questions about your rights as a research participant or have concerns about this study, call “The University Health Network Research Ethics Board” or the Research Ethics office at 416-581-7849. The REB is a group of people who oversee the ethical conduct of research studies. These people are not part of the study team. Everything that you discuss will be kept confidential.

CONSENT

Anexo 1 - Consentimento para Participar da Pesquisa

This study has been explained to me and any questions I had, have been answered. I know that I may leave the study at any time. I agree to take part in this study.

Print Study Participant's Name	Signature
Date	

(You will be given a signed copy of this consent form)

My signature means that I have explained the study to the participant named above. I have answered all questions.

Print Name of Person Obtaining Consent	Signature	Date
---	-----------	------

ANEXO 2 - QUESTIONÁRIO

Lipid Metabolism and Smoking

Specific Food Questionnaire

ID # _____ Date: _____

Date of Birth: ____/____/____ Gender: Male Female

Weight: _____kg Height: _____cm Profession: _____

Physical Activity: No Yes: _____ WeekSmoker: No Ex or Yes – Cigarettes/day: _____Time smoking: _____ yearsDo you have metabolic and/or hematologic disorders: No YesDo you take nutrient supplements: No YesConsumption of Seafood: No Yes – Specify below:

Fish (type of fish) _____

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Fish (type of fish) _____

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Fish (type of fish) _____

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Shrimp

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Squid

____ times week month - Quantity: _____ gramsLasts 3 days consumption: _____ grams

Anexo 2- Questionário

Sushi

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Other foods:

Flaxseed

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Walnuts

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Other nuts

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Granola

____ times week month - Quantity: _____ grams

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Dietary Supplement No Yes: Specify: _____

Quantity: _____ Frequency: _____

Lasts 3 days consumption: _____ grams

Consumption of alcoholic beverages: No Yes – Specify below: Beer: ____ cans week month Wine: ____ glasses week month Spirits: Specify: _____ ____ measures week month Others: Specify: _____ ____ measures week month

ANEXO 3 - TESTE

Lipid Metabolism and Smoking

Fagerstrom Test – FTND

ID # _____ Date: _____

1. How soon after waking do you smoke your first cigarette?

0 **After 60 minutes** 1 **31-60 minutes**2 **6-30 minutes**3 **Within the first 5 minutes**

2. Do you find it difficult not to smoke in places where smoking is not allowed, such as churches, your place of work, at the movies, shopping malls, etc?

0 **No** 1 **Yes**

3. Which cigarette would you be the most unwilling to give up?

0 **Any one** 1 **The first one in the morning**

4. How many cigarettes a day do you smoke?

0 **10 or fewer** 1 **11 to 20**2 **21 to 30**3 **31 or more**

5. Do you smoke more frequently during the first hours after awakening than during the rest of the day?

0 **No** 1 **Yes**

6. Do you smoke even if you are so ill that you are in bed most of the day?

0 **No** 1 **Yes**

ANEXO 4 - APROVAÇÃO CEP

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE DO
SUL - PUC/RS



PROJETO DE PESQUISA

Título: Metabolismo Lipídico e Tabagismo
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 02910112.3.0000.5336
Pesquisador: JOSÉ MIGUEL CHATKIN
Instituição: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUC/RS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 105.188
Data da Relatoria: 21/09/2012

Apresentação do Projeto:

Projeto que estuda o ácido graxo DHA em fumantes e não fumantes, sendo o DHA um protetor da membrana celular. Visa analisar níveis séricos nos dois grupos correlacionando a carga tabágica e a dieta com maior aporte de DHA, através de questionários e dosagem sanguínea.

Objetivo da Pesquisa:

Relacionar os níveis de DHA em fumantes e não fumantes, e com carga tabágica e dieta.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco mínimo face aplicação de entrevistas e retirada única de amostra sanguínea venosa, sendo estudo importante no conhecimento do tabagismo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Importante para melhor conhecimento do tabagismo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Recomendações:

Pendência quanto ao orçamento resolvida.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências resolvidas

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. Ipiranga, 6681
Bairro: CEP: 90.619-900
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)320-3345 **Fax:** (51)320-3345 **E-mail:** cep@pucrs.br

ANEXO 5 – APROVAÇÃO DO CEP DA UOFT/UHN

University Health Network
Research Ethics Board
10th Floor, Room 1056
700 University Ave
Toronto, Ontario, M5G 1Z5
Phone: (416) 581-7849

Notification of REB Amendment Approval

Date: February 19th, 2013
To: Dr. Noe Zamel
Rm 474, Mount Sinai Hospital, 600 University Ave
Re: 12-0514-BE
Lipid Metabolism and Smoking

REB Review Type: Expedited
REB Initial Approval Date: December 7th, 2012
REB Amendment Approval Date: February 19th, 2013
REB Expiry Date: December 7th, 2013

Documents Approved:

Protocol

Version date: February 12th, 2013

The UHN Research Ethics Board operates in compliance with the Tri-Council Policy Statement, ICH Good Clinical Practice Guidelines, Ontario Personal Health Information Protection Act (2004), Part 4 of the Natural Health Product Regulations and Part C, Division 5 of the Food and Drug Regulations of Health Canada.

Best wishes for the successful completion of your project.

Sincerely,

Leda Ivic Weiss, MSc
Research Ethics Coordinator

For: Anna Gagliardi, PhD
Co-Chair, University Health Network Research Ethics Board

There's always an answer. ~~We'll find it.~~

ANEXO 6 – CARTA DE SUBMISSÃO DO ARTIGO ORIGINAL

11/11/2014

ScholarOne Manuscripts

British Journal of Nutrition

**Submission
Confirmation**

Thank you for submitting your manuscript to *British Journal of Nutrition*.

Manuscript ID: BJN-RA-14-0269

Title: Smokers eat less omega-3 fatty acids than non-smokers

Authors: Scaglia, Noris
CHATKIN, JOSE
Chapman, Kenneth
Ferreira, Ivone
Wagner, Mario
Selby, Peter
Allard, Johane
Zamel, Noe

Date Submitted: 11-Nov-2014

[Print](#) [Return to Dashboard](#)

© Thomson Reuters | © ScholarOne, Inc., 2014. All Rights Reserved.

ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.

ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

[@ScholarOneNews](#) | [System Requirements](#) | [Privacy Statement](#) | [Terms of Use](#)

ANEXO 7 - ARTIGO ORIGINAL

British Journal of Nutrition

BRITISH JOURNAL
of **NUTRITION**



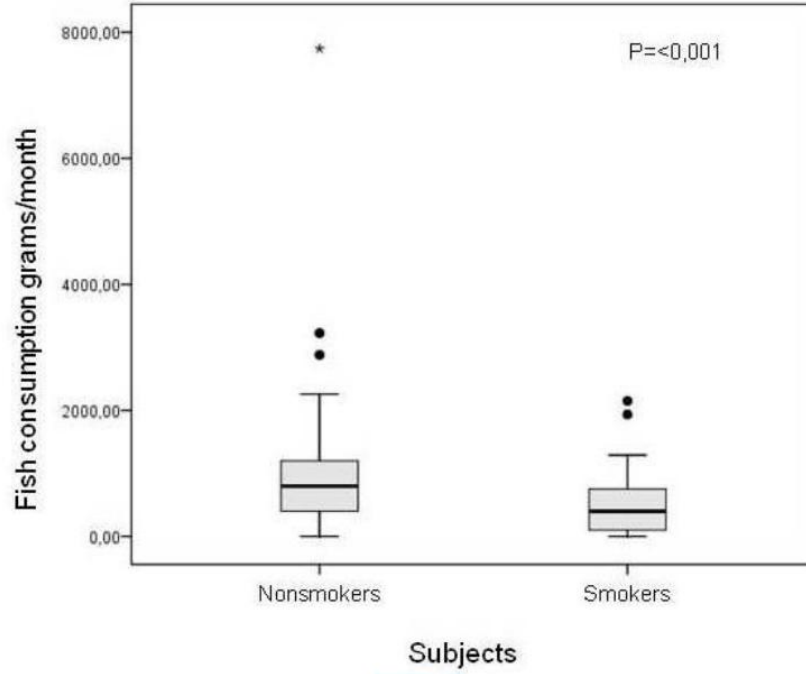
CAMBRIDGE
UNIVERSITY PRESS

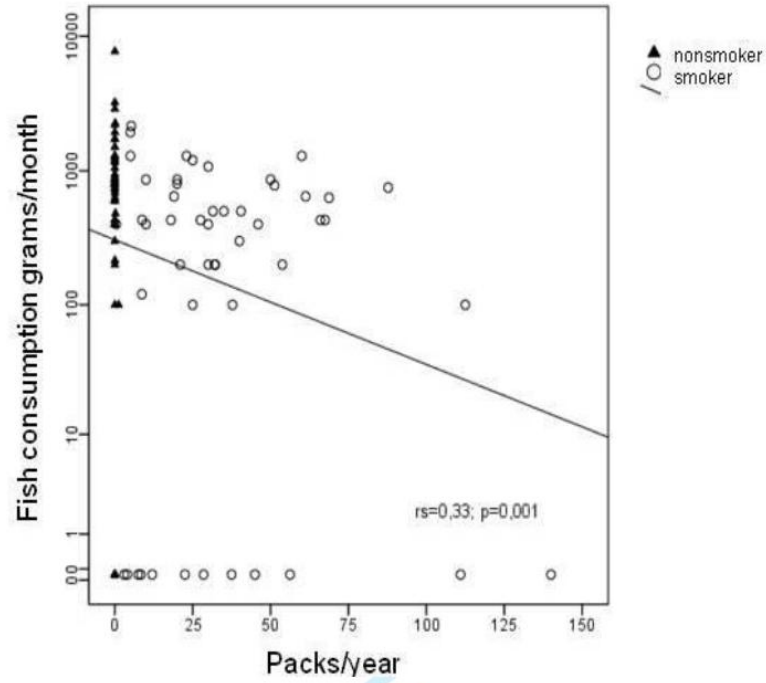
Smokers eat less omega-3 fatty acids than non-smokers

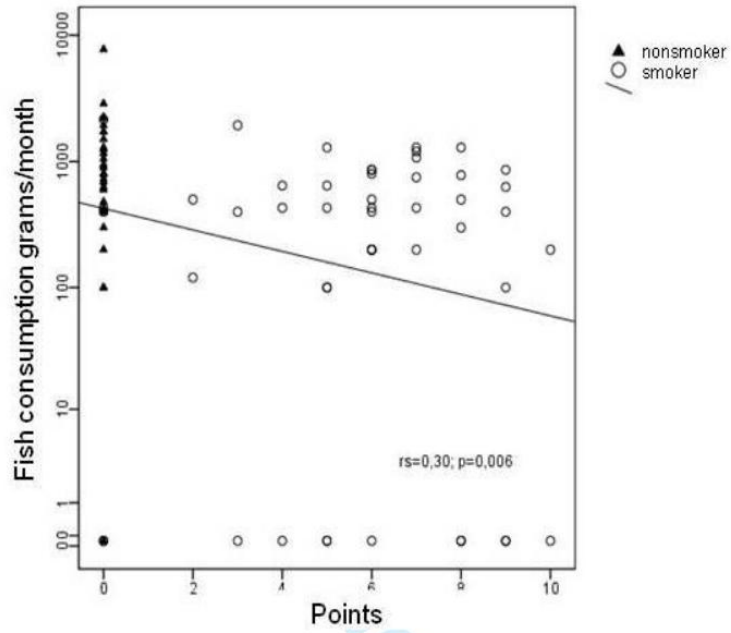
Journal:	<i>British Journal of Nutrition</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Research Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Scaqlia, Noris; Pontificia Universidade Catolica Rio Grande do Sul, Division of Respiratory Diseases CHATKIN, JOSE; Pontificia Universidade Catolica Rio Grande do Sul, Medicine Chapman, Kenneth; University Health Network, Asthma & Airway Centre Ferreira, Ivone; Toronto Western Hospital, Asthma and Airways Centre Wagner, Mario; Pontificia Universidade Catolica do Rio Grande do Sul, Medicine Selby, Peter; University of Toronto, Departments of Family and Community Medicine and Psychiatry and the Dalla Lana School of Public Health Allard, Johane; University of Toronto, Medicine Zamel, Noe; University of Toronto, Medicine
Keywords:	Omega-3, smoking, eicosapentaenoic acid, docosapentaenoic acid, lipids
Subject Category:	Human and Clinical Nutrition

SCHOLARONE™
Manuscripts

Cambridge University Press







1 **Smokers eat less omega-3 fatty acids than non-smokers**

2 N6ris Coimbra Scaglia¹

3 Jos6 Miguel Chatkin²

4 Kenneth R. Chapman³

5 Ivone Martins Ferreira⁴

6 Mario Bernardes Wagner²

7 Peter Selby⁵

8 Johane Allard⁶

9 Noe Zamel⁷

10 1 Pontificia Universidade Catolica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil

11 Address: 6690 Ipiranga Ave, Porto Alegre, RS 90610000, Brazil

12 2 Division of Respiratory Diseases, School of Medicine, Pontificia Universidade Catolica do Rio

13 Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil

14 Address: 6690 Ipiranga Ave, Porto Alegre, RS 90610000, Brazil

15 3 Asthma & Airway Centre, University Health Network, Toronto, Canada

16 Address: 399 Bathurst St, Toronto, ON M5T2S8, Canada

17 4 Asthma and Airways Centre, Toronto Western Hospital, Associate Professor of Medicine,
18 Respirology Division, McMaster University, Toronto, Canada

19 Address: 399 Bathurst St, Toronto, ON M5T2S8, Canada

20 5 Departments of Family and Community Medicine and Psychiatry and the Dalla Lana School of
21 Public Health, University of Toronto, Toronto, Canada

22 Address: 250 College St, Toronto, ON M5T1R8, Canada

23 6 Department of Medicine, Toronto General Hospital, University of Toronto, Toronto, Canada

24 Address: 200 Elizabeth St, Toronto, ON M5G2C4, Canada

25 7 Professor, Department of Medicine, Division of Respiratory Diseases, University of Toronto,
26 Toronto, Canada

27 Address: 399 Bathurst St, Toronto, ON M5T2S8, Canada

28

29 Correspondent Author:

30 Jose Miguel Chatkin, MD, MSc, PhD

31 Hospital S6o Lucas da PUCRS – Centro Cl6nico

32 6690 Ipiranga Ave, Porto Alegre, RS 90610000, Brazil

33 email: jmchatkin@puers.br

34 telephone: 55 51 96781770

35

36 Shortened version of the title: Relationship between Omega-3 and smoking

37

38 Keywords: Omega-3, smoking, eicosapentaenoic acid, docosapentaenoic acid, lipids, fatty acids.

39

40

For Review Only

41 **SUMMARY**

42 Consumption of omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) appears beneficial in the
43 prevention and treatment of several diseases. Tobacco smoking may directly alter the synthesis and
44 metabolism of these PUFAs and indirectly by altering dietary patterns. The aim of this study was to
45 study the relationship between omega-3 intake and tobacco smoking. In a controlled cross-sectional
46 study, we included current smokers (group I) and lifetime non-smokers (group II). The subjects
47 fulfilled a specific questionnaire with demographic data, lifestyle habits and detailed food intake. A
48 blood sample was taken in order to assess omega-3 PUFA in the RBC of all participants. Our
49 results showed a monthly median fish intake among smokers of 430g (0–2150g) and 800g among
50 non-smokers (0–7740g) ($P < 0.001$). Also, PUFAs composition showed a significant difference in
51 docosahexaenoic acid (DHA), being 4.13% (2.33–7.73) and 4.81% (2.79–10.21), $P = 0.002$ for
52 smokers and non-smokers, respectively. We conclude that smokers consumed a significantly less
53 fish (omega-3) and had lower RBC content of DHA than non-smokers. These findings add to the
54 knowledge of the association of omega-3 intake and cigarette smoking. Considering that the food
55 intake pattern is a changeable behavior and PUFAs probably interfere in smoking, it is possible that
56 higher consumption of omega-3 may become a new perspective in the prevention or treatment of
57 smoking.

58

59 **INTRODUCTION**

60 The omega-3 fatty acids are important components of cell membranes and play a role on
61 numerous metabolic processes including those related to neural function. (1, 2) These substances
62 may contribute to the prevention and treatment of many chronic inflammatory cardiovascular and
63 respiratory diseases, of which many are also linked to tobacco smoking. (3-9) Tobacco smokers
64 have been reported to have low blood levels of omega-3 fatty acids. (3, 10-14) and the
65 supplementation of these substances reduces tobacco craving in regular smokers, compared to
66 placebo treatment. (15) According to the American Heart Association, healthy people should eat
67 two servings of a variety of fish per week (16, 17)

68 Omega-3 content in red blood cells (RBC) varies with diet and may be altered by specific
69 supplementation. (18) Despite the importance of these substances in the human diet (19), there is no
70 consensus in the literature regarding optimal omega-3 blood levels. The sum of fatty acid
71 eicosapentaenoic (EPA) + fatty acid docosapentaenoic (DHA) in erythrocyte (RBC) membrane
72 fatty acids is a good reflection of systemic n-3 PUFA status and is called the omega-3 index, which
73 is expressed as a percent of total identified fatty acids. It has been used as a marker of
74 cardiovascular risks; the recommended value of 8% or greater to prevent coronary heart disease for
75 Western people. (18) However, if the index is lower than 4% of the total PUFAs, there is an
76 increased risk of mortality due to cardiovascular events. (20)

77 Smoking may affect RBC omega-3 content by various mechanisms. It may increase the lipid
78 peroxidation of these PUFA by promoting oxidative stress through generation of free radicals or
79 reduction in antioxidants (14, 21). It may also be associated with a reduced dietary intake of
80 omega-3 due to unhealthy dietary food choices associated with smoking (22). It is possible that
81 smoking affects the synthesis and the metabolism of fatty acids, modifying their RBC omega-3
82 content; however the possible relationship between smoking and low RBC omega-3 content is not
83 clear. There are few studies on this matter and the relationship has not been analyzed thoroughly.
84 Moreover, differences in omega-3 dietary intake between smokers and non-smokers have not been
85 considered as a possible confounding factor. (3, 10-15)

86 As such, it is important to study the relationship between smoking and the consumption of
87 omega-3, taking into account the source and the food intake of these substances. The objective of
88 this study was to evaluate the relationship between the intake of foods rich in omega-3 amongst
89 smokers and non-smokers. In addition, we sought an association between RBC omega-3 content
90 and smoking history and the level of nicotine dependence.

91

92 METHODS

93 Using a cross-sectional observational design, we recruited current smokers (group I)
94 screened at Smoking Cessation Outpatient Clinic - Toronto Western Hospital and at Smoking
95 Cessation Outpatient Clinic - Centre for Addiction and Mental Health, both in Toronto, Canada.
96 The smokers were included in the study immediately after their first medical appointment, at a time
97 when they had not yet made any changes in their smoking habits. The non-smokers of group II were
98 recruited from the local community by means of advertising.

99 Men and women aged 18 years or older were eligible to participate if they agreed to the
100 study procedures and signed informed consent. Exclusion criteria were use of omega-3
101 supplements, illiteracy, inability to understand the study procedures, pregnant or nursing mothers
102 and any currently unstable illness.

103 At the first interview, the participants were informed about the objectives and procedures of
104 study and, if they agreed, signed a written consent. The next step was to complete a specific
105 semiquantitative food frequency questionnaire in order to obtain demographic data and information
106 regarding their lifestyle habits. There were specific questions about smoking, intake of fish and
107 seafood in general, and other foods rich in omega-3. Patient should answer this questionnaire
108 considering a 3-day food record and monthly food frequency. Data on alcohol consumption and
109 physical activity were also obtained.

110 A trained registered nurse (author NSC) interviewed all the participants regarding the
111 average frequency of consumption and portion size of each food monthly. The questionnaire was
112 designed to assess the daily intakes of food groups, specially the monthly total fish intake. Data on
113 alcohol intake and smoking habits were at the same interview. Volunteers were divided as alcohol
114 non-drinkers (0-180 g/week) and drinkers (> 180 g/week). (23) Smoking status was divided into
115 three categories: current smoker, ex-smoker, and non-smoker.

116 Following this, height and weight were recorded. All smoking patients performed the
117 Fagerström Test for Nicotine Dependence (FTND). (24) The specific polyunsaturated fatty acids
118 were measured in red blood cells. (18) These tests were carried out at the Laboratory of Clinical
119 Analysis of the University of Guelph, in Canada. Blood samples were taken in 4ml test tubes
120 containing ethylene diaminetetracetic acid (EDTA) and were centrifuged (910xG for 10minutes) to
121 separate the red cells from the plasma. Following, they were frozen at a temperature of -80°C. Next,
122 a sample was taken, saponified and the transmethylation was performed using the 6890
123 Chromatograph (Supelco; 100m, 0.25µm film thickness, 0.25-mm i.d.). The results were given as a
124 percentage of the total fatty acid composition. (25)

125 The study was approved by the Research Ethics Committee of PUCRS, Porto Alegre, Brazil
126 under nº 105.188 and by the Research Ethics Committee of the University of Toronto / University
127 Health Network, Toronto, Canada, through opinion 12-0514BE.

128 Statistical Analysis:

129 The sample size was previously calculated for a significance level $\alpha = 0.05$, 90% statistical
130 power and effect size ≥ 0.5 . Categorical data were presented as counts and percentages. Continuous
131 variables were described by mean and standard deviation or by median and range when
132 distributional assumptions were in doubt. Chi-square test or Fisher's exact test were used to
133 compare categorical data. For the initial comparison of quantitative data, we used Student's t test or
134 Mann-Whitney's U test.

135 The adjusted comparison between smokers and non-smokers was conducted using an
136 ANCOVA model including age, sex, education, body mass index, ethnicity, intake of other foods,
137 alcohol consumption, and physical activity as factors. Fish consumption (in grams per month) was
138 log transformed prior to analysis and presented as geometric mean. The relative difference between
139 groups was expressed using a measure of fold change the geometric mean ratio with 95%
140 confidence interval. The strength of the association (effect size) between smoking and fish
141 consumption was also assessed using η^2 (eta-square), a statistic which has an interpretation scale
142 similar to r^2 (Pearson's linear coefficient of determination).

143 The association between smoking history and level of nicotine dependence with fish
144 consumption was evaluated using Spearman's correlation coefficient (r_s).

145 Statistical significance was set at $\alpha=0.05$. Data were analysed using SPSS version 22.0
146 (Statistical Package for the Social Sciences).

147

148 RESULTS

149 Table 1 presents the basic characteristics and habits of the subjects of our sample. Smokers
150 were older than non-smokers (53.0 ± 13.3 years vs. 40.2 ± 13.6 years, $P<0.001$) and had a
151 significantly higher BMI (27.2 ± 5.4 kg/m² vs. 24.2 ± 3.7 kg/m², $P=0.002$) compared to non-
152 smokers. There were no significant differences in gender, education level, ethnicity, physical
153 activity and weekly alcohol consumption.

154 By month, the median (minimum and maximum) consumption of fish was significantly
155 lower in smokers than non-smokers: 430 g (0 – 2,150) vs. 800g (0-7,740), $P<0.001$. This difference
156 in consumption can be seen in Figure 1.

157 Table 1 here

158 Figure 1 here

159 Table 2 shows omega-3 fatty acids of erythrocytes in relation to the total fatty acid
160 composition. Only DHA showed a significant difference between the two groups, being 4.13%
161 (2.33 – 7.73) and 4.81% (2.79 – 10.1), $P=0.002$, for smokers and non-smokers, respectively. In all
162 remaining assessed PUFAs (alpha-linolenic, eicosapentaenoic, docosapentaenoic), there was no
163 significant difference between the groups.

164 Table 2 here

165 The omega-3 index was lower in smokers than non-smokers: 5.00 (2.68-9.86) versus 5.95
166 (2.91-11.7) respectively, $P=0.011$. This difference is shown by figure 2.

167 Figure 2 here

168 To evaluate the relationship between fish intake by month and smoking we carried out an
169 univariate and multivariate regression, as shown in Table 3. In the univariate regression, the MR
170 between smokers and non-smokers was of 2.16 (95%CI 1.36-3.45), $P=0.001$, $\eta^2=0.10$, which is
171 indicative of a moderate relationship. After adjusting for possible confounding factors, such as age,
172 gender, education, BMI, ethnicity, consumption of other foods, alcohol consumption and physical
173 activity, the MR changed to 2.03, $P=0.02$ (95%CI 1.09–3.78, $P=0.07$ and $\eta^2=0.07$.

174 Table 3 here

175 There was a significant difference in consumption of different types of fish in the two
176 groups. The regular intake of salmon was reported by 18% of the smokers and by 52% of the non-
177 smokers ($P=0.025$). The Intake of other types of fish was not different between groups (table 4).

178 Table 4 here

179 Figure 3 shows the relationship between monthly fish intake and smoking history, including
180 non-smokers as zero smoking history. The correlation coefficient was $r_s=0.033$, $P=0.001$. For
181 smokers only, the correlation coefficient was $r_s=0.05$, which does not hold any statistical
182 significance ($P=0.74$).

183 Figure 3 here

184 Figure 4 shows the relationship between monthly fish intake and levels of nicotine
185 dependence according to the FTND. The correlation coefficient of the general sample was $r_s=0.030$,
186 $P=0.006$, where non-smokers have a FTND score of zero. The correlation coefficient amongst
187 smokers alone was $r_s=0.01$, $P=0.098$.

188 Figure 4 here

189

190 DISCUSSION

191 This study was specifically designed to evaluate the fatty acid composition of RBC among
192 smokers and non-smokers, adjusting for several confounding factors as lifestyle and alcohol
193 consumption.

194 We noted that smokers consumed significantly less fish and had blood DHA concentrations
195 and omega-3 indices significantly lower than that of non-smokers. These results remained
196 significant after adjusting for several potential confounding factors. Furthermore, there was a non-
197 significant trend such that omega-3 RBC content tended to be lower the more tobacco consumed
198 expressed as pack-years.

199 We observed that our non-smokers sample had a significant greater consumption of salmon
200 compared to smokers, a difference not seen with other fish species. This finding is consistent with
201 the higher RBC concentrations of omega-3 found in non-smokers, given that the amount of EPA
202 and DHA in salmon is the highest among types of fish catalogued by our questionnaires.

203 Our results confirm the inverse relation between smoking and lower RBC omega-3 fatty
204 acids content reported by Simon et al. in 1996 (10) and by Pawlosky et al. (13) in 1997. However,
205 those studies did not take into account possible differences in dietary intake between smokers and
206 non-smokers. The analysis of food consumption is different in our study, given that the feeding
207 routine was assessed in detail for each of the participants and taken into account when adjusting the
208 multivariate analysis.

209 The finding that the lower the number of cigarettes smoked, the higher the fish intake when
210 looking at the general sample data, included the group of non-smokers (classified as zero tobacco
211 smoked). When we studied only smokers and their packs/year and the consumption of DHA, there
212 was only a trend for the same inverse association, possibly due to insufficient sample size for this
213 subgroup analysis. The intake of other foods also rich in omega-3 showed no significant difference
214 according to the groups. We speculate that these foods are consumed in smaller quantities and less
215 frequently from the general sample.

216 There are several possible explanations for lower RBC omega-3 content and its possible
217 consequences. It has already pointed out that a dietary deficiency of omega-3 might be associated
218 with increased risk of mental or behavioral disorders, including smoking (26-30), confirming that
219 the high lipid concentration of the omega 3 series in the brain points to a functional and structural
220 importance of those compounds in that organ. Also, differences in eating styles, influenced by
221 geographical and cultural patterns, could induce to a routinely low intake of foods rich in omega-3.
222 It is possible that such low omega3 intake could be an inferring risk factor for smoking habits. (19,
223 31) However, such inference lacks specific studies.

224 The susceptibility of PUFAs to oxidation has been offered as a possible explanation for the
225 lower RBC omega-3 content among smokers. (14, 21) The role of the food chain in the intricate
226 neurobiological mechanisms related to the release of many neurotransmitters in brain still needs
227 further assessing. (32-34) The release of specific neurotransmitters, through smoking or by the diet,
228 might interfere in the choice of foods to be eaten or even in inducing the habit of smoking. (31) The

229 interference of smoking in the absorption, metabolism and synthesis of fatty acids is also a
230 possibility to be considered. (10) Also, low concentrations of omega-3 PUFAs can affect
231 neurotransmission, resulting in affecting the reward and dependence mechanisms and thus
232 increasing cigarette craving, and frustrating smoking cessation attempts. On the other hand, daily
233 administration of omega-3 PUFAs EPA and DHA to smokers was accompanied by a significant
234 decrease in the number of daily cigarettes smoked and in tobacco craving episodes. (15)

235 DHA action in neural plasticity and in cognition mechanisms is becoming clearer. There is
236 evidence that DHA may improve cognitive ability and facilitate synaptic plasticity. (35, 36) The
237 improvement of cognitive ability is linked to decreased risk of neurological and psychiatric illnesses
238 (26, 37), another possible link to the inverse relationship between smoking and omega-3 intake.

239 The relationship between omega-3 index and smoking status is a controversial topic. We
240 detected a significant difference in the omega-3 index between the smokers 5.00 (minimum-
241 maximum values 2.68-9.86) and non-smokers 5.95 (minimum-maximum values 2.91-11.7)
242 $P=0.011$. However, Kim et al found no difference between smokers and non-smokers. (38)

243 Some limitations to our study should be noted. First, we recruited control subjects from the
244 general population by advertisement and recruited a number of health care personnel who might
245 have differed in lifestyle from the smoking group. Nonetheless, when were corrected for
246 differences between the two groups, the reported relationships between smoking and DHA
247 concentrations persisted. Second, we gathered dietary data by questionnaire and have not verified
248 consumption of various foodstuffs directly. Finally, we do not know the impact of smoking
249 cessation on DHA concentrations and cannot determine if DHA concentrations are reduced by
250 tobacco consumption or if the association is indirect via independent factor that influences both
251 smoking and addictive behaviors and dietary preferences. We examined only western volunteers,
252 which limits the generalizability of our results to other population groups that usually eat more fish,
253 as the Japanese and Korean individuals. (38)

254 Our findings confirmed earlier reports that non-smokers had higher levels of DHA that
255 might help to protect them from several chronic diseases. We have also found that smokers are less
256 likely to consume foods rich in omega-3 fatty acids than non-smokers. Future studies will be
257 needed to determine the reason for these dietary differences. Meanwhile, studies of DHA
258 metabolism in smokers must now control for the consumption of dietary omega-3 fatty acids.

259 Our results may help to clarify the importance of omega 3 intake in relation to smoking.
260 Considering that the food intake pattern is a changeable behavior, it is possible that a new
261 perspective in the prevention or treatment of smoking, (39) at least, decreasing cigarette craving,
262 can be glimpsed, provided that these initial results are confirmed. According to our knowledge,
263 these findings have not been yet demonstrated with the adjustment for food intake.

264

265 **Acknowledgement:**

266 N6ris Scaglia was supported by CAPES/ Brazilian Ministry of Education in her PhD Program in the
267 PUCRS, Porto Alegre, Brazil and in the University of Toronto, Canada.

268 Professor Kenneth Chapman was supported by the GSK-CIHR Research Chair in Respiratory
269 Health Care Delivery.

270

271 **Conflict of Interest:** None

272

273 **Figures Legends**

274

275 Figure 1 - Fish consumption among nonsmokers and smokers

276 Figura 2 - Fish consumption by smoking

277 Figure 3 - Fish consumption nicotine by dependence level

278

279

280 Authorship

281 N6ris Coimbra Scaglia - Responsible for developing the research question, designing and
282 conducting the study. Assistant in data analysis. First writer of the article.

283 Jos6 Miguel Chatkin - Responsible for developing the research question, designing and supervising
284 the study conduction in Porto Alegre. Supervisor of data analysis and paper final draft.

285 Kenneth R. Chapman - Responsible for developing the research question, designing and supervising
286 the study conduction in Toronto and revising the draft of the article.

287 Ivone Martins Ferreira - Responsible for developing the research question, designing and
288 conducting the study and revising the draft article.

289 Mario B Wagner - Responsible for designing the study conducting and data analysis.

290 Peter Selby - Responsible for developing the research question, designing the study, conducting and
291 revising the draft article.

292 Johane Allard - Responsible for developing the research question, designing the study, conducting
293 the biochemical analyses and revising the draft article.

294 Noe Zamel – Responsible for developing the research question, designing the study. General
295 supervisor of the study in Toronto; final reviser of the article.

296

297

REFERENCES

298

299 1. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain: possible health
300 implications. *Int J Dev Neurosci*. 2000;18(4-5):383-99.

301 2. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI. The role of polyunsaturated fatty acids
302 in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging*. 2002;23(5):843-53.

303 3. Knapp HR. Omega-3 fatty acids in respiratory diseases: a review. *J Am Coll Nutr*.
304 1995;14(1):18-23.

305 4. Rangel-Huerta OD, Aguilera CM, Mesa MD, Gil A. Omega-3 long-chain polyunsaturated
306 fatty acids supplementation on inflammatory biomarkers: a systematic review of randomised clinical
307 trials. *Br J Nutr*. 2012;107 Suppl 2:S159-70.

308 5. Harris WS. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: a case for omega-3 index as a
309 new risk factor. *Pharmacol Res*. 2007;55(3):217-23.

310 6. Duda MK, O'Shea KM, Tintinu A, Xu W, Khairallah RJ, Barrows BR, et al. Fish oil, but not
311 flaxseed oil, decreases inflammation and prevents pressure overload-induced cardiac dysfunction.
312 *Cardiovasc Res*. 2009;81(2):319-27.

313 7. Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F. Long chain omega-3
314 fatty acids and cardiovascular disease: a systematic review. *Br J Nutr*. 2012;107 Suppl 2:S201-13.

315 8. Morris MC, Evans DA, Tangney CC, Bienias JL, Wilson RS. Fish consumption and
316 cognitive decline with age in a large community study. *Arch Neurol*. 2005;62(12):1849-53.

317 9. Li J, Xun P, Zamora D, Sood A, Liu K, Daviglius M, et al. Intakes of long-chain omega-3 (n-
318 3) PUFAs and fish in relation to incidence of asthma among American young adults: the CARDIA
319 study. *Am J Clin Nutr*. 2013;97(1):173-8.

320 10. Simon JA, Fong J, Bernert JT, Browner WS. Relation of smoking and alcohol consumption
321 to serum fatty acids. *Am J Epidemiol*. 1996;144(4):325-34.

322 11. Shahar E, Boland LL, Folsom AR, Tockman MS, McGovern PG, Eckfeldt JH.
323 Docosahexaenoic acid and smoking-related chronic obstructive pulmonary disease. The
324 Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. *Am J Respir Crit Care Med*.
325 1999;159(6):1780-5.

326 12. Sharp DS, Rodriguez BL, Shahar E, Hwang LJ, Burchfiel CM. Fish consumption may limit
327 the damage of smoking on the lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;150(4):983-7.

328 13. Pawlosky RJ, Hibbeln JR, Salem N. Compartmental analyses of plasma n-3 essential fatty
329 acids among male and female smokers and nonsmokers. *J Lipid Res*. 2007;48(4):935-43.

330 14. Spitale RC, Cheng MY, Chun KA, Gorell ES, Munoz CA, Kern DG, et al. Differential
331 effects of dietary supplements on metabolomic profile of smokers versus non-smokers. *Genome*
332 *Med*. 2012;4(2):14.

333 15. Rabinovitz S. Effects of omega-3 fatty acids on tobacco craving in cigarette smokers: A
334 double-blind, randomized, placebo-controlled pilot study. *J Psychopharmacol*. 2014;28(8):804-9.

335 16. Harris WS, Bulchandani D. Why do omega-3 fatty acids lower serum triglycerides? *Curr*
336 *Opin Lipidol*. 2006;17(4):387-93.

337 17. Siriwardhana N, Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. Health benefits of n-3
338 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *Adv Food Nutr Res*.
339 2012;65:211-22.

340 18. Harris WS. The omega-3 index: clinical utility for therapeutic intervention. *Curr Cardiol*
341 *Rep*. 2010;12(6):503-8.

342 19. Tur JA, Bibiloni MM, Sureda A, Pons A. Dietary sources of omega 3 fatty acids: public
343 health risks and benefits. *Br J Nutr*. 2012;107 Suppl 2:S23-52.

344 20. Superko HR, Superko SM, Nasir K, Agatston A, Garrett BC. Omega-3 fatty acid blood
345 levels: clinical significance and controversy. *Circulation*. 2013;128(19):2154-61.

346 21. Nitta H, Kinoyama M, Watanabe A, Shirao K, Kihara H, Arai M. Effects of nutritional
347 supplementation with antioxidant vitamins and minerals and fish oil on antioxidant status and
348 psychosocial stress in smokers: an open trial. *Clin Exp Med*. 2007;7(4):179-83.

- 349 22. Wennberg M, Tornevi A, Johansson I, Hörnell A, Norberg M, Bergdahl IA. Diet and
350 lifestyle factors associated with fish consumption in men and women: a study of whether gender
351 differences can result in gender-specific confounding. *Nutr J*. 2012;11:101.
- 352 23. Canada. *Canada Health: Health Concerns: Terminology*: [http://www.hc-sc.gc.ca/hc-](http://www.hc-sc.gc.ca/hc-ps/tobac-tabac/research-recherche/stat/ctums-esutc_term-eng.php)
353 [ps/tobac-tabac/research-recherche/stat/ctums-esutc_term-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/hc-ps/tobac-tabac/research-recherche/stat/ctums-esutc_term-eng.php); 2014 [cited 2014 31 Oct 2014].
- 354 24. Heatherton TF, Kozlowski LT, Frecker RC, Fagerström KO. The Fagerström Test for
355 Nicotine Dependence: a revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. *Br J Addict*.
356 1991;86(9):1119-27.
- 357 25. Arendt BM, Mohammed SS, Aghdassi E, Prayitno NR, Ma DW, Nguyen A, et al. Hepatic
358 fatty acid composition differs between chronic hepatitis C patients with and without steatosis. *J*
359 *Nutr*. 2009;139(4):691-5.
- 360 26. Freeman MP, Hibbeln JR, Wisner KL, Davis JM, Mischoulon D, Peet M, et al. Omega-3
361 fatty acids: evidence basis for treatment and future research in psychiatry. *J Clin Psychiatry*.
362 2006;67(12):1954-67.
- 363 27. Hibbeln JR, Makino KK, Martin CE, Dickerson F, Boronow J, Fenton WS. Smoking,
364 gender, and dietary influences on erythrocyte essential fatty acid composition among patients with
365 schizophrenia or schizoaffective disorder. *Biol Psychiatry*. 2003;53(5):431-41.
- 366 28. Grosso G, Pajak A, Marventano S, Castellano S, Galvano F, Bucolo C, et al. Role of omega-
367 3 fatty acids in the treatment of depressive disorders: a comprehensive meta-analysis of randomized
368 clinical trials. *PLoS One*. 2014;9(5):e96905.
- 369 29. Janssen CI, Kiliaan AJ. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to
370 senescence: the influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration. *Prog*
371 *Lipid Res*. 2014;53:1-17.
- 372 30. Hamazaki K, Hamazaki T, Inadera H. Abnormalities in the fatty acid composition of the
373 postmortem entorhinal cortex of patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive
374 disorder. *Psychiatry Res*. 2013;210(1):346-50.
- 375 31. Gómez-Pinilla F. Brain foods: the effects of nutrients on brain function. *Nat Rev Neurosci*.
376 2008;9(7):568-78.
- 377 32. Levin ED, McClemon FJ, Rezvani AH. Nicotinic effects on cognitive function: behavioral
378 characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology*
379 *(Berl)*. 2006;184(3-4):523-39.
- 380 33. Saccone SF, Hinrichs AL, Saccone NL, Chase GA, Konvicka K, Madden PA, et al.
381 Cholinergic nicotinic receptor genes implicated in a nicotine dependence association study targeting
382 348 candidate genes with 3713 SNPs. *Hum Mol Genet*. 2007;16(1):36-49.
- 383 34. dos Santos VA, Chatkin JM, Bau CH, Paixão-Côrtes VR, Sun Y, Zamel N, et al. Glutamate
384 and synaptic plasticity systems and smoking behavior: results from a genetic association study.
385 *PLoS One*. 2012;7(6):e38666.
- 386 35. Pifferi F, Roux F, Langelier B, Alessandri JM, Vancassel S, Jouin M, et al. (n-3)
387 polyunsaturated fatty acid deficiency reduces the expression of both isoforms of the brain glucose
388 transporter GLUT1 in rats. *J Nutr*. 2005;135(9):2241-6.
- 389 36. Gomez-Pinilla F, Tyagi E. Diet and cognition: interplay between cell metabolism and
390 neuronal plasticity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2013;16(6):726-33.
- 391 37. Rondanelli M, Giacosa A, Opizzi A, Pelucchi C, La Vecchia C, Montorfano G, et al. Long
392 chain omega 3 polyunsaturated fatty acids supplementation in the treatment of elderly depression:
393 effects on depressive symptoms, on phospholipids fatty acids profile and on health-related quality
394 of life. *J Nutr Health Aging*. 2011;15(1):37-44.
- 395 38. Kim YJ, Jeong DW, Lee JG, Lee HC, Lee SY, Yi YH, et al. Omega-3 index and smoking in
396 patients with acute ST-elevation myocardial infarction taking statins: a case-control study in Korea.
397 *Lipids Health Dis*. 2012;11:43.
- 398 39. Zapparoli JX, Galduróz JC. Treatment for tobacco smoking: a new alternative? *Med*
399 *Hypotheses*. 2012;79(6):867-8.

400 **Tables**

401

Table 1 - Characteristics and habits of volunteers, n = 100.

	Smokers n = 50	Nonsmokers n = 50	P
Age, years	53.0 (13.3)	40.2 (13.6)	<0.001
Female sex, no. (%)	25 (50.0)	31 (62.0)	0.31
Education \geq 9 years, no. (%)	36 (72.0)	39 (78.0)	0.65
Body mass index, kg/m ² *	27.2 (5.4)	24.2 (3.7)	0.002
Ethnicity Caucasian, no. (%)	48 (96.0)	41 (82.0)	0.10
Physical activity, sessions/week	0.0 (0 to 7)	2.3 (0 to 7)	0.81
Food consumption, grams/mo			
Fish consumption	430 (0 to 2150)	800 (0 to 7740)	<0.001
Shrimp consumption	50 (0 to 1290)	100 (0 to 1500)	0.13
Squid consumption	0.0 (0 to 100)	0.0 (0 to 875)	0.11
Sushi consumption	0.0 (0 to 1720)	100 (0 to 2500)	0.060
Flaxseed consumption	0.0 (0 to 172)	0.0 (0 to 194)	0.68
Nuts consumption	0.0 (0 to 455)	0.0 (0 to 645)	0.33
Oilseeds consumption	25 (0 to 4515)	129 (0 to 8600)	0.13
Granola consumption	0.0 (0 to 1505)	0.0 (0 to 6020)	0.96
Alcohol consumption	130 (407 to 1050)	136 (407 to 568)	0.34

Data are presented as counts (percentages), mean (\pm SD) or median (minimum to maximum).

402

403

404

Table 2 - RBC omega-3 fatty acids concentrations in subjects of the sample

		Smokers n=50	Nonsmokers n=50	P
Coding	Fatty acid nomenclature			
18:3	Alpha-linolenic	0.32 (0 to 0.85)	0.26 (0 to 0.66)	0.36
20:5	Eicosapentaenoic	0.95 (0.35 to 2.24)	1.06 (0.13 to 2.93)	0.94
22:5	Docosapentaenoic	2.29 (1.43 to 3.45)	2.26 (1.64 to 3.17)	0.86
22:6	Docosahexaenoic	4.13 (2.33 to 7.73)	4.81 (2.79 to 10.21)	0.002

The data were presented as median (minimum to maximum).

405

406

For Review Only

407

Table 3 – Average fish consumption (in grams per month) between smokers and nonsmokers

Model	Smokers	Nonsmokers	GMR	95%CI	P	η^2
Unadjusted	276	598	2.16	1.36 to 3.45	0.001	0.10
Ajusted*	333	676	2.03	1.09 to 3.78	0.026	0.07

Data are described as geometric mean; GMR: geometric mean ratio of non-smokers to smokers representing the relative difference or fold change; η^2 : Eta square (ANCOVA's measure of effect size); *Terms included in the model were age, sex, education, BMI, consumption of other foods, drinking, and weekly physical activity.

408

409

For Review Only

410

411

Table 4 – Fish consumption rates between smokers and nonsmokers

Fish	Smokers n=50	Nonsmokers n=50	P
Salmon	14 (28.0)	26 (52.0)	0.025
Trout	2 (4.0)	5 (10.0)	0.44
Tuna	8 (16.0)	8 (16.0)	>0.99
Haddock	0 (0.0)	3 (6.0)	0.24
Tilapia	0 (0.0)	4 (8.0)	0.12
All types	14 (28.0)	15 (30.0)	>0.99
Others	7 (14.0)	16 (32.0)	0.057

Data are presented as counts (percentages).

412