



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

Caroline Joana Kuyven

**Perfil Inflamatório da Dieta e Dano
ao DNA em Atletas Soropositivo
para SARS-COV-2**

PPGNut

Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Nutrição

UFCSPA

Porto Alegre
2024

Caroline Joana Kuyven

Perfil Inflamatório da Dieta e Dano ao DNA em Atletas Soropositivo para SARS-COV-2

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

Orientadora: Profa Dra Alessandra Peres

Porto Alegre

2024

Catálogo na Publicação

Kuyven, Caroline Joana
Perfil Inflamatório da Dieta e Dano ao DNA em Atletas Soropositivo para SARS-COV-2 / Caroline Joana Kuyven. -- 2024.

71 p. : 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, 2024.

Orientador(a): Alessandra Peres.

1. Perfil inflamatório da dieta. 2. Dano ao DNA. 3. COVID-19. 4. Exercício Físico. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação foi desenvolvida com base na Normativa de instrução para trabalho final do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, a qual pode ser consultada no site institucional <https://www.ufcspa.edu.br/documentos/ppg/nutricao/normativa-instrucao-trabalho-final.pdf>.

O produto desta dissertação foi estruturado em um artigo:

Artigo: *"Maior potencial inflamatório da dieta, dano ao DNA e percentual de gordura, e menor tempo de atividade física em atletas soropositivos para SARS-COV-2"*, o qual será submetido, após apreciação da Banca, ao periódico International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolismo (Print ISSN: 1526-484X; Online ISSN: 1543-2742; fator de impacto: 2.5; qualis A2), cujas normas para a submissão podem ser consultadas em:

https://journals.humankinetics.com/view/journals/ijsnem/ijsnem-overview.xml?tab_body=author-guidelines#Authorship

Para citações e referências da dissertação foram utilizadas as normas Vancouver, conforme solicitado na Normativa de Instrução para Trabalho Final. Para as citações e referências do artigo foram utilizadas as normas da American Psychological Association (APA) - 7ª edição - versão modificada, exigidas pelo periódico escolhido para a submissão.

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO _____	8
1.1 DANO AO DNA _____	8
1.2 SARS-COV-2 E DANO AO DNA _____	10
1.3 EXERCÍCIO FÍSICO E DANO AO DNA _____	13
1.4 ALIMENTAÇÃO E DANO AO DNA _____	16
2. JUSTIFICATIVA _____	25
3. OBJETIVOS _____	26
3.1 OBJETIVO GERAL _____	26
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO _____	26
4. REFERÊNCIAS _____	27
5. ARTIGO CIENTÍFICO _____	33
ANEXOS _____	53

LISTA DE ABREVIATURAS

8-OHdG	8-hidroxi-2-desoxiguanosina
%BF	percentual de gordura
%DNA	porcentagem de DNA na cauda do cometa
COVID-19	coronavírus 2019
DDC	dano ao DNA celular
DNA	ácido desoxirribonucleico
ELSA-Brasil	estudo longitudinal de saúde do adulto
EROS	espécies reativas de oxigênio
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
IID	índice inflamatório da dieta
IIA	índice inflamatório alimentar
IL-6	interleucina 6
IMC	índice de massa corporal
G1	atletas com diagnóstico prévio de COVID-19
G2	atletas sem diagnóstico prévio de COVID-19
METS	equivalentes metabólicos
O ₂ -	superóxido
OH	hidroxila
PUFAs	ácidos graxos poliinsaturados
QFA	questionário de frequência alimentar
RNA	ácido ribonucleico
SARS-COV-2	coronavírus-2 da síndrome respiratória aguda grave
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
UFCSPA	Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
VO ₂ max	volume de oxigênio máximo

RESUMO

A COVID-19 provocou alterações temporárias e permanentes na saúde dos indivíduos, podendo gerar estresse oxidativo e dano ao DNA celular (DDC). A falta ou excesso de exercício físico é capaz de aumentar a inflamação e possibilita a geração de danos ao DNA. A alimentação rica em compostos inflamatórios e oxidantes é capaz de exacerbar ou atenuar tais malefícios. O presente estudo de caráter observacional teve a inclusão de atletas adultos de corrida (10 ou 21 km), com ou sem diagnóstico prévio de COVID-19. Foram realizadas coletas sanguíneas pré corrida, pós corrida imediata, e após 24 horas da corrida, a fim de avaliar o dano ao DNA através de ensaio cometa. Houve a aplicação de Índice Alimentar Inflamatório (IIA) para avaliação do perfil inflamatório alimentar.

Palavras-chave: coronavírus; estabilidade do DNA; treinamento físico; anti-inflamatório

ABSTRACT

COVID-19 has caused temporary and permanent health changes in individuals, which can lead to oxidative stress and DNA damage (DDC). Lack of or excess physical exercise can increase inflammation and lead to the generation of DDC. Eating a diet rich in inflammatory and oxidising compounds can exacerbate or attenuate this damage. This observational study included adult runners (10 or 21 km) with and without a previous diagnosis of COVID-19. Blood samples were taken pre-run, immediately post-run, and 24 hours after the run to assess DNA damage using the comet assay. The Inflammatory Food Index (IFI) was used to determine the dietary inflammatory profile.

Keywords: coronavirus; DNA stability; physical training; anti-inflammatory

1. REFERENCIAL TEÓRICO

Este referencial teórico aborda os temas relacionados ao dano ao ácido desoxirribonucleico (DNA), compreendendo desde o seu mecanismo, bem como a relação entre fatores que favorecem seu surgimento, como a infecção pelo coronavírus-2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-COV-2), o exercício físico em excesso, e o perfil inflamatório da alimentação.

1.1 DANO AO DNA

O estresse oxidativo emerge a partir da diferença entre a taxa de produção, a taxa de acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS) e a concentração de antioxidantes celulares [1]. Embora haja um sistema de defesa específico a fim de evitar tal estresse, a produção contínua de EROS e a deficiência na atividade antioxidante podem desequilibrar a formação de EROS e a eficácia do sistema de proteção, acarretando no surgimento de estresse oxidativo [2]. Os EROS são gerados a partir de uma redução incompleta de oxigênio durante a respiração celular. Nesse processo, parte do oxigênio utilizado pelas mitocôndrias não é convertido em água, e sim reduzido ao ânion superóxido (O_2^-), que pode ser reduzido ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e, em seguida, ao radical livre hidroxila (OH). Dentre os EROS os radicais livres como O_2^- e OH são os mais danosos [2, 3].

A produção de EROS em quantidades moderadas regulam diversos processos biológicos e fisiológicos, atuando como moléculas-chave de sinalização intracelular. No entanto, a produção excessiva de EROS associa-se frequentemente à aceleração do envelhecimento humano, bem como à fisiologia de algumas doenças crônicas. Moléculas como o DNA são constantemente oxidadas pelo aumento na geração de EROS, pela inflamação e pelo estresse oxidativo, através de quebra de fita simples e dupla ou de ligações cruzadas DNA-proteína, bem como lesões na base, como oxidação, nitração, metilação, alquilação e desaminação, gerando interrupção na transcrição e indução da parada do ciclo celular, resultando em dano. Além destes fatores, os processos de peroxidação lipídica, também desencadeados pelos EROS, contribuem para a formação de lesões ao DNA [2, 4]. Na Figura 1 podemos observar um esquema

demonstrando possíveis origens para a formação de EROS, bem como fatores de influência, e suas possíveis consequências.

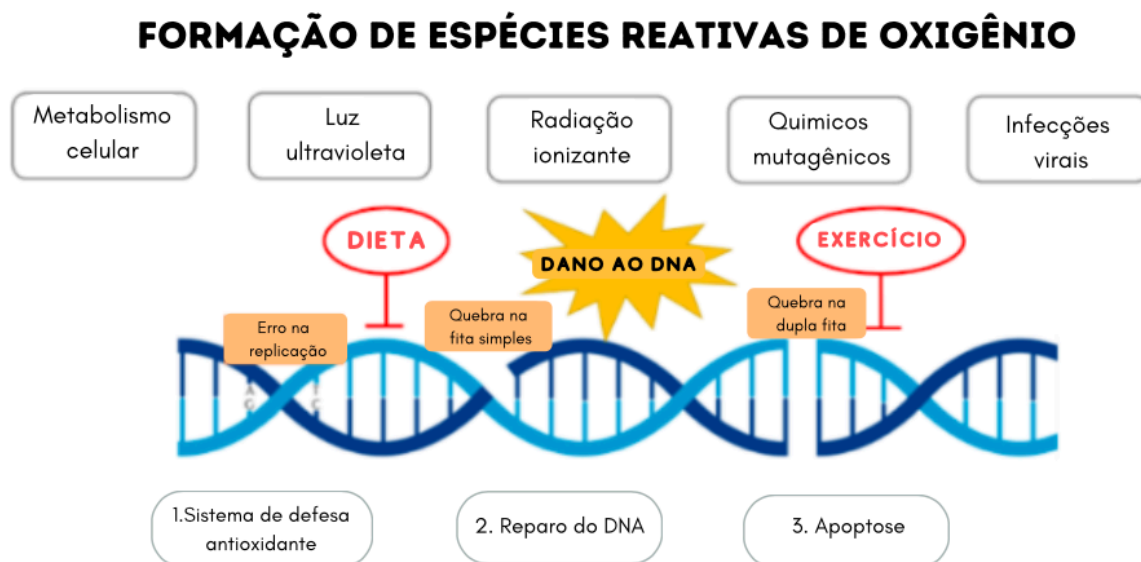


Figura 1. Formação de espécies reativas de oxigênio. As células são expostas a fontes exógenas e endógenas de EROS, que em excesso podem originar DDC. Dieta e exercício físico adequados podem evitar a formação de dano ao DNA. O sistema de defesa consiste em: 1) sistema de defesa antioxidante - primeira linha de defesa, 2) mecanismos de reparo de DNA - segunda linha de defesa, 3) morte celular programada - terceira linha de defesa. Fonte: adaptado de Nordengen, 2022 [5]

O dano recorrente ao DNA pode levar a um aumento na taxa de mutação, bem como alterar a expressão gênica, contribuindo para alterações no metabolismo celular e trazendo risco para a sobrevivência da célula [2]. A fim de evitar tais consequências, são ativadas cascatas de sinalização que direcionam as células à apoptose ou à senescência, a fim de prevenir a replicação de um genoma danificado [6]. No entanto, alterações significativas e acumulativas no DNA, induzidas pelo estresse oxidativo e o reparo insuficiente do DNA, ocasionam rápido envelhecimento e podem, posteriormente, acarretar no desenvolvimento de placas ateroscleróticas, bem como em doenças neurodegenerativas, mutagênese e carcinogênese [3].

O ensaio cometa é uma técnica que permite avaliar o estado de integridade em que se encontra o DNA do indivíduo. Frequentemente essa técnica é aplicada para descrever mudanças da estabilidade do DNA após a atividade física. Em

condições alcalinas, é um método simples, rápido e sensível que detecta quebras de cadeias de DNA. O princípio fundamental do método baseia-se na migração do DNA danificado, que é frequentemente fragmentado e que por consequência migra mais, em um campo elétrico, formando imagens em forma de cometa, conforme demonstrado na Figura 2. A frequência de quebras de cadeias de DNA é representada pela quantidade relativa de DNA na cauda (intensidade da cauda), que permite avaliar os danos [3].

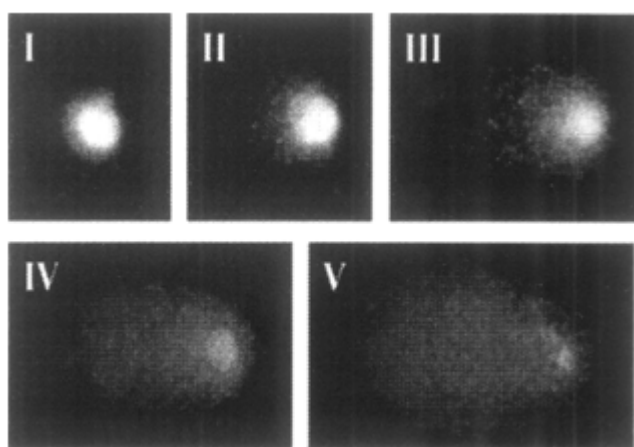


Figura 2. Padrões de fragmentação típicos do ensaio cometa. Nível de danos ao DNA representados de forma crescente nas classes de I a V como indicado pelo aumento na migração da cauda (classe I: 0-6%; classe II: 6.1-17%; classe III: 17.1-35%; classe IV: 35.1-60%; classe V: 60.1-100%). De Guetens et al., 2002 [7].

1.2 SARS-COV-2 E DANO AO DNA

No ano de 2019, foram detectados na cidade de Wuhan, China, casos de pneumonia de etiologia desconhecida. Posteriormente, a doença infecciosa coronavírus 2019 (COVID-19), cuja causa se dá pela infecção pelo SARS-COV-2, foi reconhecida. Como consequência há a desregulação em diversas vias da célula hospedeira, especialmente as vias relacionadas à resposta imune e inflamação, estresse oxidativo, regulação do ciclo celular, homeostase, metabolismo do ácido ribonucleico (RNA), senescência, autofagia e apoptose [1]. Devido à velocidade no contágio e à gravidade do vírus, a Organização Mundial da Saúde declarou, no ano de 2020, emergência de saúde pública internacional [8].

Seu caráter epidemiológico varia dentre os países em razão da adoção individual de medidas de prevenção que influenciam no número de casos e de

mortes. De modo geral, homens são mais afetados em frequência e gravidade do que mulheres, sendo a idade média de contato de 47 anos. Em crianças e adolescentes o vírus apresenta, de modo geral, apenas sintomas leves. Em se tratando do número de mortes, ocorre predominantemente em indivíduos maiores de 70 anos e com doenças crônicas associadas. A fim de conter o contágio acelerado, diversos países adotaram medidas de supressão e mitigação, como quarentena forçada, rastreamento de contatos, vigilância eletrônica dos movimentos dos cidadãos, suspensão de aulas e cancelamento de vôos [8].

A primeira descrição do coronavírus ocorreu na década de 1960, caracterizados como os maiores vírus de RNA de fita simples, encapsulados, esféricos, e cercados por uma camada proteica, sendo o SARS-COV-2 o sétimo identificado a causar doenças em humanos [8]. O SARS-COV-2 penetra na célula hospedeira ao se associar a fatores de ligação celular, tais como glicanas e integrinas, e através da ligação da glicoproteína spike com a enzima conversora de angiotensina 2 [1]. Sua transmissão ocorre predominantemente através de gotículas (partículas grandes com mais de 5 milímetros), originadas de tosse ou espirro de indivíduo contaminado. Embora menos prevalente, a transmissão através de aerossóis (pequenas partículas com menos de 5 milímetros), bem como contato com superfícies ou fontes contaminadas, também é possível e apresenta relevância [8].

A incubação considerada do vírus SARS-COV-2 é de, em média, 5 dias, com variação de 0 a 14 dias. Tal período longo de incubação pode favorecer o aumento do risco de transmissão. Em se tratando de sintomas, a maioria dos pacientes desenvolvem-os em cerca de 11 dias após a infecção. Os sintomas são variáveis, podendo o contágio ser apresentado de forma assintomática, ou em quadros leves até graves. Febre (87,9%), tosse (66,7%) e fadiga (38,1%) são os sintomas clínicos mais frequentes [8].

Sua patogênese está descrita em três fases distintas: fase de replicação viral, com carga viral baixa e geralmente assintomática; fase inflamatória, caracterizada pela resposta inflamatória das vias aéreas superiores e das condutoras; e fase hiper inflamatória, em que ocorre hipóxia tecidual e apoptose celular. Embora seja um vírus com genoma RNA de fita única com replicação predominantemente no citoplasma, está relacionado a instabilidade no genoma e a dano ao DNA celular (DDC) da célula hospedeira, visualizado pela presença de

micronúcleos, focos de reparo de DNA, e aumento na cauda de cometas de células infectadas [8, 9]. O dano ao genoma celular pode ser detectado e reparado através de diversas vias. No entanto, o conhecimento acerca dos mecanismos exatos de reparo de vírus RNA são mais limitados em relação aos vírus de DNA [1].

A interação entre vírus e os danos e reparos ao DNA pode ser vista sob duas perspectivas distintas. Primeiramente, há o dano causado ao material genético da célula hospedeira, indiretamente ou diretamente por meio de proteínas virais, como pela produção de EROS ou pela indução de estresse na replicação do DNA. Em segundo lugar, os vírus podem interferir nas vias de reparo do DNA da célula hospedeira, potencialmente aumentando os DDC, uma vez que o reparo das lesões usuais do DNA pode ser comprometido [1]. A deficiência nos mecanismos de reparo do DNA podem aumentar a probabilidade de desenvolvimento futuro de doenças crônicas em pacientes recuperados do COVID-19 [10].

Foi observado que, após infecção por SARS-COV-2, a fosforilação de proteínas envolvidas no reparo de quebra de fita dupla e ligação ao DNA de fita única, entre outras, aumentou de forma significativa [1]. Estudos demonstraram que o DNA de pacientes com COVID-19 apresenta maior dano em comparação com indivíduos saudáveis, evidenciado pelo ensaio do cometa, além de determinar a associação positiva entre a gravidade da doença, a extensão dos danos ao DNA e o estresse oxidativo [9, 10]. A intensidade da cauda foi 175,4% (2,75 vezes) e 69,3% (1,69 vezes) maior em pacientes com sintomas graves e leves, respectivamente, em comparação ao grupo controle sem COVID-19 [10].

Na condição pós-COVID, há a possibilidade de DDC a longo prazo devido a presença de vírus residual ou ainda latente remanescente no indivíduo infectado após a recuperação. O RNA do SARS-COV-2 foi observado em vários locais no corpo de indivíduos que faleceram pela doença, além da retenção de RNA viral e/ou proteína em locais específicos [11]. Ainda não está bem estabelecido se o vírus SARS-COV-2 possui comportamento semelhante ao vírus da Hepatite C - outro vírus de RNA de cadeia única -, onde sua persistência pode propiciar a manutenção de estresse oxidativo e altos níveis de EROS, levando ao provável acúmulo de DDC [1]. Estudos deverão ser realizados nos próximos anos a fim de detectar danos permanentes ocasionados pela COVID-19.

1.3 EXERCÍCIO FÍSICO E DANO AO DNA

O exercício físico é considerado um fator de relevância na prevenção de doenças como as cardiovasculares, diabetes e câncer, bem como a redução no risco de mortalidade por todas as causas. Apesar de seus efeitos benéficos em atividades leves a moderadas, exercícios extenuantes definidos por qualquer atividade capaz de gastar no mínimo seis equivalentes metabólicos (METS) por minuto, sendo de longa distância, de alta intensidade ou se realizado sem períodos de descanso, podem acarretar em prejuízos metabólicos [4, 12]. Há uma relação entre exercício físico extenuante e a formação exacerbada de EROS, verificado a partir da detecção de radicais livres no músculo e fígado, aumento de biomarcadores de dano oxidativo, e redução dos níveis de antioxidantes, devido ao aumento nas taxas de consumo de oxigênio corporal [13]. Dessa forma, a Figura 3 demonstra através da curva de hormesis em formato de sino o efeito dose-benefício observado em praticantes de exercício físico.

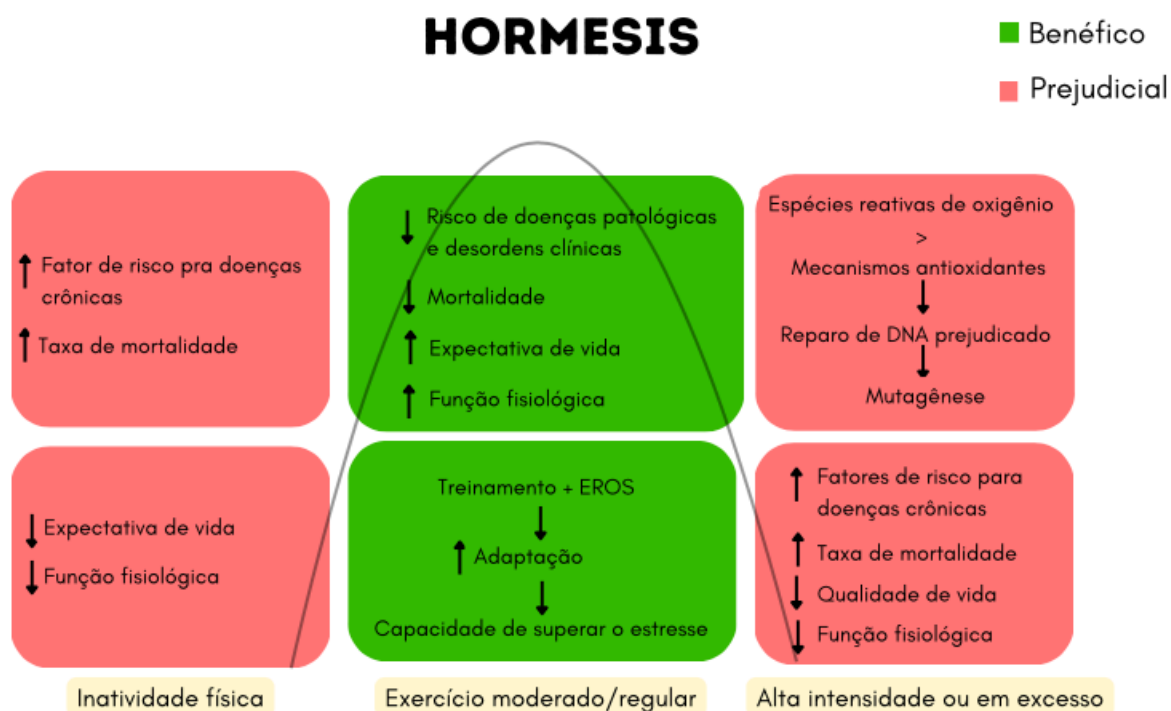


Figura 3. A relação entre exercício físico e a oxidação do DNA e seus efeitos explicados pela curva de hormesis. Fonte: adaptado de Tryfidou et al, 2020 [5]

Não existe um ponto limite definido que esteja relacionado ao início do DDC permanente e reparo insuficiente ocasionado pelo exercício físico, cuja dificuldade de determinação se dá pela heterogeneidade de fatores como sexo, idade e condicionamento físico que influenciam o dano. Estudos demonstram que indivíduos saudáveis ao realizarem exercício físico agudo de intensidade leve apresentaram níveis de 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (8-OHdG), um marcador de DDC, menores do que indivíduos sedentários, demonstrando um possível sistema de reparo efetivo e capacidade maior de tolerar níveis superiores de EROS [14]. Além disso, indivíduos fisicamente ativos podem também desenvolver uma capacidade antioxidante e um sistema de reparo de danos mais efetivo [15].

Durante o exercício físico, os EROS são produzidos a partir de diferentes mecanismos. Há um aumento das necessidades energéticas corporais, ocasionando uma absorção de oxigênio até 15 vezes maior em comparação ao repouso, além de um aumento de até 100 vezes de fluxo de oxigênio muscular [4]. Tal estresse oxidativo ocasionado pelo alto consumo de oxigênio é exacerbado em indivíduos fumantes e com obesidade [13]. Além disso, a autooxidação de catecolaminas e a ativação de células inflamatórias, como neutrófilos e linfócitos, devido aos danos no tecido muscular e de isquemia e/ou hipóxia também estão envolvidos na formação de EROS [3].

Uma revisão avaliou formas de amenizar o estresse oxidativo e inflamação presentes após exercício físico através de suplementação antioxidante [16]. Tais estratégias nutricionais são relevantes quando consideramos a influência do estresse e inflamação à fadiga, recuperação prejudicada e possível DDC. Os resultados variaram devido a heterogeneidade na duração da suplementação, a biodisponibilidade dos nutrientes, a carência nutricional e as defesas antioxidantes endógenas relacionadas ao nível de treinamento dos participantes.

Nesta revisão, o único estudo que demonstrou atenuação nos níveis de interleucina 6 (IL-6) e cortisol ao exercício de moderada a alta intensidade (até 2,5 horas de duração) envolveu um período mínimo de 2 semanas de suplementação de 200 mg de vitamina C, cuja biodisponibilidade diária é reduzida em doses superiores. Em se tratando de vitamina E, doses entre 600 a 800 UI de RRR-alfa-tocoferol por dia pareceu ser mais eficaz na redução da inflamação, tendo biodisponibilidade aumentada quando ingeridas em refeições ricas em lipídios. Nesse sentido, a redução no consumo de gordura por atletas pode

influenciar sua absorção e disponibilidade em neutralizar EROS durante a atividade física. Grandes doses de vitamina C e E podem ser prejudiciais à saúde, apresentando efeito contrário ao desejado. Um esquema demonstrando a relação entre exercício, estresse oxidativo e antioxidantes pode ser observado na Figura 4. Mais informações sobre fatores nutricionais serão discutidos no próximo tópico.

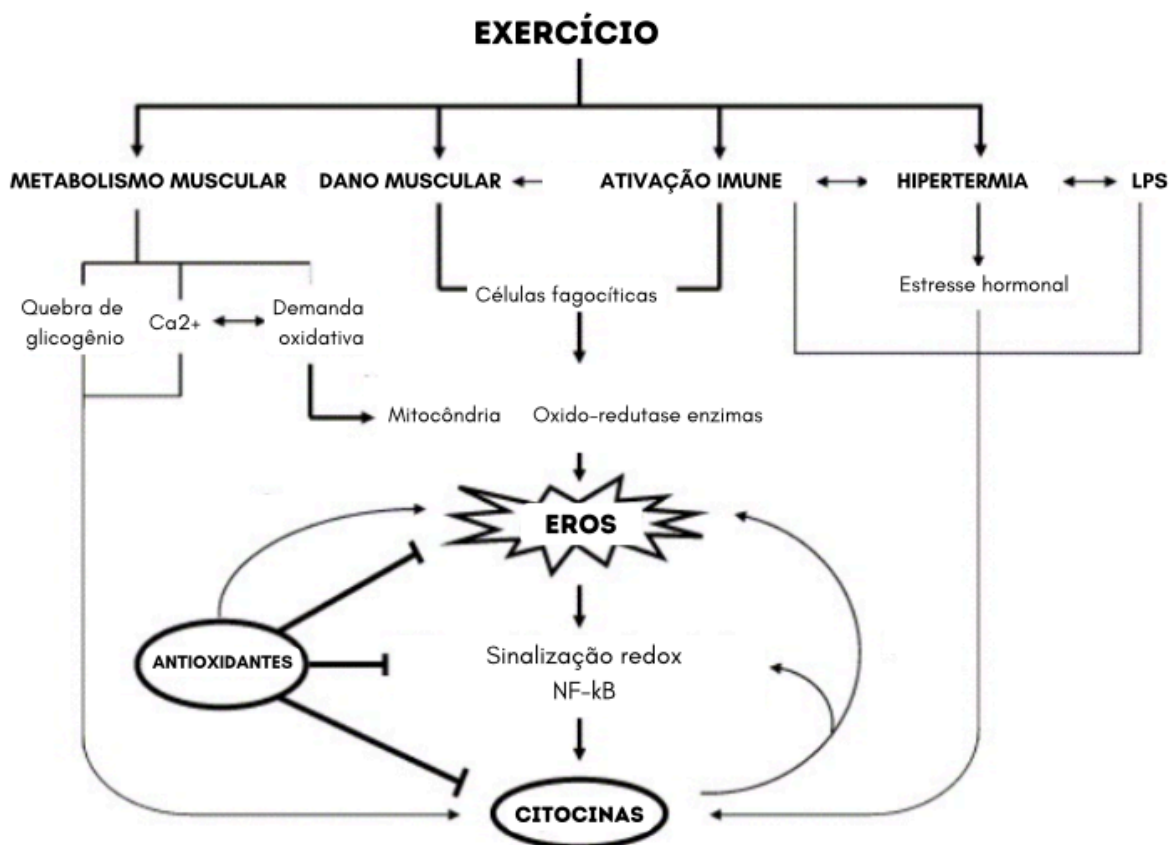


Figura 4 - Um esquema que indica as interações entre exercício, ROS e RNS, antioxidantes e citocinas. *Abreviações: LPS = lipopolissacarídeo.* Fonte: adaptado de Peake et al, 2007 [16]

Uma recente meta-análise demonstrou que o DDC aumentou imediatamente com grande tamanho de efeito após o exercício aeróbico agudo. O DDC manteve-se elevado em 24 horas após o exercício. O exercício aeróbico em qualquer intensidade parece produzir estímulos capazes de aumentar a produção de EROS [4]. No entanto, exercícios agudos isolados, mesmo de alta intensidade de longa duração, não são capazes de gerarem danos permanentes ao DNA. Embora seja observado DDC pontuais imediatamente após a atividade física, alguns estudos demonstram retorno do DDC à linha de base dentro de 3 dias

após o exercício, não sendo necessariamente prejudiciais nesse caso [17, 18]. Dessa forma, o exercício físico não deve gerar consequências a longo prazo ao indivíduo praticante, desde que haja um correto tempo de recuperação entre exercícios de alta intensidade. No entanto, os resultados existentes na literatura são controversos, visto que o reparo do dano depende de diversos fatores endógenos e de exposição exógena.

1.4 ALIMENTAÇÃO E DANO AO DNA

A alimentação tem sido comumente utilizada como fator para identificação de desfechos crônicos e determinantes de saúde, desempenhando um papel central na regulação da inflamação crônica, embora seja de difícil mensuração e avaliação. Um esquema demonstrando a relação entre estresse oxidativo, inflamação, sistema imune, replicação viral e a relação entre macro e micronutrientes pode ser observado na Figura 5.



Figura 5 - Diagrama esquemático que mostra as interações entre os constituintes dietéticos, o sistema imunológico e a infecção viral. *Abreviações: IG = índice glicêmico.* Fonte: adaptado de Iddir et al, 2020 [19]

Ferramentas como o Questionário de Frequência Alimentar (QFA) surgem para determinar o consumo de alimentos, nutrientes, grupos de alimentos, e padrões alimentares de participantes [20]. O cálculo do Índice Inflamatório Alimentar (IIA), a partir do QFA, foi proposto com o objetivo de identificar o potencial inflamatório de determinada alimentação, capaz de favorecer a geração de EROS. Os escores mais altos (positivos) do IIA indicam uma alimentação mais pró-inflamatória, e os escores mais baixos (negativos) indicam uma alimentação mais anti-inflamatória. O cálculo do IIA foi desenvolvido a partir da população do estudo longitudinal de saúde do adulto (ELSA-Brasil), assim como o QFA utilizado no nosso estudo. Aos grupos que apresentaram correlações com os valores de proteína C reativa e leucócitos totais foram atribuídos índices anti ou pró-inflamatórios, estando descritos na Tabela 1.

GRUPO ALIMENTAR	PRODUTOS DIETÉTICOS DO QFA	PERFIL INFLAMATÓRIO
Carne processada	Mortadela, presunto, salame, linguiça, salsichão, chouriço, copa, patê	Pró-inflamatório
Carne de porco	Carne de porco com e sem ossos	
Refrigerante diet	Refrigerante sem açúcar	
Carne vermelha	Carne de gado (bife, carne moída, carne ensopada)	
Suco artificial sem açúcar	Suco artificial sem açúcar	
Café com açúcar	Café com açúcar	
Suco artificial com açúcar	Suco artificial com açúcar	
Cerveja	Cerveja	
Nozes	Castanha de caju, amêndoas, nozes, castanha do Pará, pistache, amendoim	
Vinho	Vinho branco e tinto	

Pizza	Pizza	
Carne de frango	Peito de frango, chester, peru, frango cozido (outras partes)	
Cereal integral	Aveia, granola, farelos, outros cereais, arroz integral, pão integral, pão de centeio	
Frutas	Laranja/tangerina/mexerica/bergamota, banana, mamão, maçã/pêra, melancia, melão, abacaxi, manga, uva	

Tabela 1 - Alimentos incluídos no cálculo do IIA e perfil inflamatório

Além do IIA, a avaliação do perfil inflamatório alimentar pode ser realizada através do Índice Inflamatório da Dieta (IID), cuja principal diferença se dá pela avaliação do perfil inflamatório alimentar através de macronutrientes, micronutrientes e compostos bioativos, em vez de grupos alimentares. Um estudo associou IID com DDC via ensaio cometa em obesos (índice de massa corporal (IMC) > 35 kg/m²). Embora não tenha sido demonstrado um impacto claro do IID com o DDC, quando separado por faixas etárias, indivíduos acima de 60 anos apresentaram uma alimentação menos diversificada, além de maior IID e maior DDC [21].

Uma análise geral de hábitos de vida saudáveis demonstrou forte associação negativa ao DDC. Nesse estudo, foram avaliadas as seguintes práticas de saúde: tabagismo, consumo de álcool, horas de sono, horas de trabalho, exercício físico, café da manhã, nutrição equilibrada e estresse mental. O desequilíbrio nutricional, a prática de exercício físico menor que 2 vezes por semana, menos de 6 horas por dia de sono, e horário de trabalho superior a 9 horas por dia, tiveram contribuição significativa em um maior DDC. O fumo apresentou contribuição significativa apenas sob alta frequência de uso [22].

Fatores de saúde como a obesidade podem contribuir para o elevado estresse oxidativo, inflamação e a instabilidade do genoma, acarretando em uma ampla gama de danos ao DNA e inibição de mecanismos de reparo. A presença

de restrição calórica é capaz de atenuar a geração de EROS pelas mitocôndrias, e, por conseguinte, reduzir o DDC [13]. Um estudo demonstrou que o DDC, que aumentou concomitantemente com a idade, foi suspenso pela restrição calórica [23].

A alimentação rica em produtos orgânicos, grãos integrais, frutas e vegetais e pobre em alimentos processados mostrou níveis mais baixos de DDC em comparação a indivíduos com alimentação rica em alimentos processados e pobres em frutas e vegetais. Além disso, os indivíduos do primeiro grupo (alimentação saudável) eram moradores de zona rural, e a ausência do estresse da vida urbana, bem como o contato próximo com a natureza podem ter influenciado positivamente na visualização de tal resultado, visto que fatores de exposição ambiental como a poluição do ar e luz solar influenciam o DDC [24].

Um estudo avaliou a diferença entre a dieta vegana (exclui todos os produtos de origem animal), vegetariana (exclui todas as carnes e frutos do mar), pescovegetariana (exclui carnes com exceção de frutos do mar), semivegetariana (consumo de carne limitado) ou onívora nos escores de IID durante 6 meses em indivíduos com sobrepeso ou obesidade. É de se esperar que dietas com menor consumo de carne apresentem melhorias nos índices de IID, considerando a redução esperada de gordura saturada e colesterol, e possível aumento no consumo de fibra ao substituir a proteína animal por vegetal. Foi observado que todos os participantes veganos, vegetarianos e pescovegetarianos observaram melhora na pontuação do IID em comparação com os participantes semivegetarianos [25]. Em relação ao DDC, a dieta vegetariana parece apresentar tendência à redução do dano oxidativo ao DNA, sendo a dieta lactovegetariana (mantém apenas o consumo de lácteos dentre alimentos de fonte animal) a responsável pelo menor nível de DDC [26].

Padrões alimentares, como o adotado pela dieta mediterrânea, caracterizada pelo consumo de frutas, vegetais, aves, peixes magros, nozes e produtos lácteos, têm se mostrado protetores modulando a expressão gênica de reparo do DNA e mantendo o comprimento do telômero. Um estudo encontrou proteção contra DDC observada na adoção da dieta mediterrânea isolada, assim como no consumo de alimentos repletos de compostos bioativos (como azeite e vinho tinto), ou com compostos antioxidantes (coenzima Q10). O consumo quantitativo e qualitativo de gorduras foi um dos fatores primordiais para o

resultado obtido [27]. Corroborando com tal afirmação, outro estudo demonstrou que o consumo de PUFAs esteve associado à redução de DDC, enquanto o aumento de DDC esteve associado à ingestão de ácidos graxos saturados [28].

No entanto, o consumo quantificado de gordura pode refletir também negativamente os níveis de DDC, devido a fácil oxidação que sofrem durante o armazenamento. Nesse sentido, controverso aos achados anteriores, o consumo de ácidos graxos oxidados pode gerar a produção de EROS. Além disso, o estresse oxidativo persistente e a peroxidação lipídica aumentada de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) ômega-6, como o ácido linoléico e araquidônico, geram danos macromoleculares e interrupção das vias de sinalização, com formação de compostos capazes de reagir com DNA [13, 29].

Um estudo demonstrou que o aumento da ingestão de PUFAs de 5% para 15% da energia consumida durante 2 semanas aumentou significativamente os danos ao DNA em homens saudáveis. Tal malefício foi mitigado pela suplementação vitamínica de 80 mg/d de vitamina E [30]. Dessa forma, foi demonstrado que, através de estudos controversos, o tipo de óleo e seu caráter antioxidante, afetado pela presença relevante ou não de compostos como os polifenóis, podem modular o DDC [29, 31].

Vários micronutrientes estão envolvidos como cofatores em reações de manutenção do DNA, incluindo a síntese de DNA, seu reparo, sua metilação e a apoptose, e sua deficiência pode gerar DDC. A falta de nutrientes por si só é capaz de levar prejuízos à estabilidade genômica, produzindo efeitos semelhantes a distúrbios genéticos herdados ou exposição a carcinógenos [32]. Tal falta de antioxidantes e cofatores enzimáticos essenciais para reparar e metilar o DNA, em combinação com o consumo elevado de aditivos químicos muito presentes na alimentação dos dias atuais, em conjunto com predisposição genética, pode resultar em exacerbação dos efeitos de instabilidade genômica e hipometilação de proto-oncogenes [24]. Alguns dos mecanismos conhecidos pelos quais deficiências em micronutrientes específicos podem causar danos ao DNA e instabilidade cromossômica são através do encurtamento e disfunção do telômero, mutação ou deleção de sequência de bases de DNA, e disfunção do centrômero [33].

Foi demonstrado que a deficiência em micronutrientes como ferro, zinco, ácido fólico, vitamina B12, vitamina B6, vitamina B3, vitamina C ou vitamina E,

gera quebra de fita única e dupla no DNA e/ou lesões oxidativas, imitando efeitos maléficos da radiação ou de produtos químicos [34]. Uma revisão sistemática destacou a importância da vitamina A e seu precursor β -caroteno, as vitaminas C, E, os minerais selênio e zinco e os fitoquímicos curcumina em associação com a piperina, o licopeno e as proantocianidinas na prevenção do estresse oxidativo e inflamação, bem como a vitamina B12, o folato e o zinco no metabolismo e reparo do DNA [33].

Em se tratando de antioxidantes, vitaminas e minerais, embora haja o conhecimento acerca de uma alimentação rica em frutas e vegetais para prevenção da carcinogênese, a relação entre o consumo de alimentos *in natura* e o impacto no DCC permanecem escassos, bem como sua suplementação demonstra comprovação limitada na redução de DDC.

Um estudo realizado em indivíduos com baixa ingestão de frutas e vegetais avaliou possível proteção contra danos oxidativos de um suplemento multi micronutriente composto por: quatorze vitaminas (vitamina A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, C, niacina, biotina, betacaroteno, folato e ácido pantotênico) e nove minerais (cálcio, ferro, iodo, zinco, cobre, manganês, magnésio, cromo e selênio). O suplemento também continha fitoquímicos de extratos ou pó de acerola, alfafa, brassica, cenoura, cítricos, semente de uva, casca de uva, alecrim e espinafre, e a intervenção foi realizada durante 8 semanas. Embora os pacientes tenham recebido orientação para manterem sua alimentação e estilo de vida padrão, eles foram orientados a evitarem alimentos com alto teor de antioxidantes. Foi observada uma resistência contra danos oxidativos no grupo suplementação versus placebo em relação à intensidade e comprimento da cauda do DNA [35].

Apesar da demonstração efetiva de que antioxidantes são capazes de modular os DDC em estudos *in vitro* e em animais, os ensaios clínicos não demonstram uma convincente efetividade [13]. A suplementação de 20 mg diários de betacaroteno por 20 semanas não demonstrou alterar a taxa de excreção de 8-OHdG em fumantes [36]. Em concordância a isso, além da administração de betacaroteno não ser capaz de afetar indicadores de DDC, a suplementação de vitamina C e vitamina E também parecem ser controversas [37, 38]. É necessário considerar que vitaminas antioxidantes também podem possuir propriedades pró-oxidantes, podendo apresentar efeito negativo, como a vitamina C sob a presença de íons metálicos reduzidos no meio, bem como a vitamina E atuando

como promotor da carcinogênese. Além disso, há a possibilidade de que a correção do estresse oxidativo através da suplementação antioxidante possa ser efetiva apenas em populações com determinada deficiência [13].

Suplementos não vitamínicos e não minerais também podem estar atrelados ao estresse oxidativo e DDC. A suplementação de glucosamina, condroitina e suplementos de fibra estiveram associadas aos níveis reduzidos de estresse oxidativo, enquanto a suplementação de coenzima Q10 foi relacionada à diminuição do DDC [22].

Apesar de uma dieta rica em alimentos contendo carotenóides, um composto bioativo derivado da vitamina A, apresentar propriedades antioxidantes e de prevenção de danos ao DNA, inibindo a carcinogênese, por outro lado a suplementação de betacaroteno, o precursor da vitamina A, pode aumentar a incidência de câncer em fumantes [39]. Isso pode ser explicado devido à diversidade de carotenóides e outros compostos bioativos encontrados em alimentos em contrapartida à suplementação isolada, além da menor biodisponibilidade detectada em alimentos [13].

O licopeno, um carotenóide cuja principal fonte é o tomate, parece estar envolvido na prevenção de DDC. Tem sido demonstrado uma tendência de redução da oxidação de DNA sob suplementação de diversas dosagens de licopeno (20 - 150mg/dia), através de variadas fontes alimentares: suco de tomate, molhos e oleorresina de licopeno [40, 41].

Vegetais crucíferos, como brócolis, repolho e couve de bruxelas, são capazes de reduzir o risco no desenvolvimento de vários tipos de câncer. A ingestão de 300g de couve de bruxelas, bem como o consumo do seu extrato aquoso, por dia foi capaz de reduzir os níveis de 8-OHdG [36, 42]. No entanto, em um estudo envolvendo ratos como modelo experimental, seu extrato aumentou os níveis de 8-OHdG [43].

As isoflavonas, compostos bioativos da soja, têm sido amplamente estudadas devido ao seu poder antioxidante, em particular a genisteína e a daizeína. Elas suprimem os radicais livres e induzem enzimas eliminadores de antioxidantes [44]. Indivíduos que consumiram 1 litro de bebida à base de soja durante 4 semanas apresentaram redução de DDC em comparação aos indivíduos que consumiram bebida à base de arroz e leite de vaca semidesnatado no mesmo período de tempo [45].

Os polifenóis são compostos bioativos presentes em frutas, vegetais, folhas, sementes, flores e nozes que podem interferir nas vias que regulam a proliferação e divisão celular, a resposta inflamatória e imunológica e a desintoxicação. Os chás são uma das principais fontes de polifenóis, sendo a epigallocatequina uma das mais importantes. Uma das ações de regulação oxidativa se dá pela inibição da xantina oxidase associada à formação de EROS (ref 258). É possível observar no estudo de Wei et al [46] a inibição da indução de 8-OHdG pelo chá verde e chá preto. A adição de epigallocatequina ao chá verde e preto auxiliou na redução de 8-OHdG. Além disso, a ingestão de 5 xícaras ao dia de chá verde durante 4 semanas demonstrou redução do dano ao DNA em fumantes. Isso ocorreu através da inibição do crescimento celular e interrupção do ciclo celular com aumento nos marcadores de apoptose, reduzindo o número de células com DDC na amostra [47].

O resveratrol, catequina, epicatequina e proantocianidinas são compostos bioativos encontrados nas uvas. A suplementação de resveratrol em ratos foi capaz de reduzir os níveis de 8-OHdG [48]. Um estudo realizado com o público masculino avaliou a influência da ingestão de 240 mL ao dia de vinho tinto em uma dieta mediterrânea ou uma dieta rica em gordura durante 3 meses. O DDC foi aumentado na dieta rica em gordura, sendo reduzido, através da avaliação de 8-OHdG, em aproximadamente 50% dos valores basais após a ingestão de vinho [49].

Uma recente revisão sistemática que avaliou efeitos da suplementação antioxidante em marcadores de estresse oxidativo e danos musculares após exercício de força encontrou benefícios referente à suplementação de suco de romã no alívio o estresse oxidativo, da taurina diminuindo a isquemia e a produção de EROS, dos mirtilos reduzindo a oxidação, da melatonina prevenindo a oxidação extracelular e intracelular e da aveia melhorando a resposta inflamatória. No entanto, a ingestão dietética de macronutrientes e micronutrientes dos participantes dos estudos não foram padronizadas, apresentando-se como uma importante limitação [12].

O consumo de álcool também está associado a maior frequência de DDC. Em um estudo comparando o consumo de 300 mL de vinho tinto desalcoholizado, com álcool ou apenas etanol demonstrou que o primeiro apresentou redução significativa (20%) no DDC em 60 e 120 minutos após o consumo, e o segundo

demonstrou proteção contra DDC em comparação ao etanol puro. Tais achados demonstram que apenas a fração não alcoólica do vinho é capaz de ter efeito protetor [50].

2. JUSTIFICATIVA

A atividade física regular e de baixa intensidade é incentivada para reduzir o risco de desenvolvimento de doenças agudas e crônicas. Por outro lado, exercícios prolongados ou excessivos são capazes de aumentar a inflamação e desencadear a geração de danos mediados por radicais livres. As espécies reativas de oxigênio são geradas durante o exercício de alta intensidade e são conhecidas por afetar a estabilidade do DNA [4].

A pandemia da COVID-19 ocasiona alterações temporárias e permanentes na saúde dos indivíduos infectados pelo SARS-COV-2. O aumento de mediadores pró-inflamatórios induzidos pela infecção viral podem ocasionar também dano ao DNA, promovendo instabilidade genômica e interrompendo o processo e reparo de DNA. Pacientes soropositivos para SARS-COV-2 tiveram um nível significativamente maior de dano ao DNA em comparação com os indivíduos controle [9, 10].

Ao considerarmos o fator dietético, alguns compostos com elevado potencial antioxidante podem ser observados em alimentos, como vitaminas, minerais e compostos bioativos [13]. Espera-se que os antioxidantes e anti-inflamatórios dietéticos reduzam a formação de danos oxidativos ao DNA, presentes em indivíduos soropositivos para SARS-COV-2 e em atletas de exercícios extenuantes e excessivos.

Dessa forma, pretendemos verificar um possível impacto da COVID-19 no dano ao DNA dos atletas, visto que alterações excessivas podem ocasionar envelhecimento precoce e danos severos, como aumento no risco para carcinogênese. Além disso, buscamos identificar a influência de uma dieta rica em antioxidantes e compostos anti-inflamatórios em atenuar tais malefícios.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Compreender o impacto do índice inflamatório da dieta e do diagnóstico prévio de COVID-19 no dano ao DNA em atletas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a composição corporal dos indivíduos através da avaliação do IMC e do percentual de gordura;
- Identificar o volume de treinamento dos atletas;
- Relacionar o perfil inflamatório alimentar com a composição corporal, o nível de atividade física e o dano ao DNA.

4. REFERÊNCIAS

1. Grand RJ. SARS-CoV-2 and the DNA damage response. *The Journal of general virology*. 2023. 104(11), 001918.
2. Włodarczyk M, Nowicka G. Obesity, DNA Damage, and Development of Obesity-Related Diseases. *International journal of molecular sciences*. 2019. 20(5), 1146.
3. Wagner KH, Reichhold S, Neubauer O. Impact of endurance and ultraendurance exercise on DNA damage. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2011. 1229: 115-123.
4. Tryfidou DV, McClean C, Nikolaidis MG, Davison, GW. DNA Damage Following Acute Aerobic Exercise: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*. 2020. 50(1), 103–127.
5. Norgeden, AL. DNA damage and repair capacity related to diet and exercise: a new dimension in cancer treatment? *British Journal of Sports Medicine*. 7 Jan, 2022.
6. Yousefzadeh M, Henpita C, Vyas R, Soto-Palma C, Robbins P, Niedernhofer L. DNA damage-how and why we age? *Elife*. 2021 Jan 29;10:e62852.
7. Guetens G, De Boeck G, Highley M, van Oosterom AT, de Bruijn EA. Oxidative DNA damage: biological significance and methods of analysis. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2002 Sep;39(4-5):331-457.
8. Souza ASR, Amorim MMR, Melo ASO, Delgado AM, Florêncio ACMCC, Oliveira TV, et al. General aspects of the COVID-19 pandemic. *Revista Brasileira De Saúde Materno Infantil*. 2021. 21, 29–45.
9. Gioia U, Tavella S, Martínez-Orellana P, Cicio G, Colliva A, et al. SARS-CoV-2 infection induces DNA damage, through CHK1 degradation and impaired 53BP1 recruitment, and cellular senescence. *Nat Cell Biol*. 2023;25:550–564.
10. Basaran MM, Hazar M, Aydın M, Uzuğ G, Özdoğan İ, et al. Effects of COVID-19 disease on DNA damage, oxidative stress and immune responses. *Toxics*. 2023;11:386.

11. Stein SR, Ramelli SC, Grazioli A, Chung JY, Singh M, et al. SARS-CoV-2 infection and persistence in the human body and brain at autopsy. *Nature*, 2022. 612(7941), 758–763.
12. Canals-Garzón C, Guisado-Barrilao R, Martínez-García D, Chiroso-Ríos IJ, Jerez-Mayorga D, Guisado-Requena IM. Effect of Antioxidant Supplementation on Markers of Oxidative Stress and Muscle Damage after Strength Exercise: A Systematic Review. *International journal of environmental research and public health*. 2022. 19(3), 1803.
13. Hwang ES, Bowen PE. DNA damage, a biomarker of carcinogenesis: its measurement and modulation by diet and environment. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2007. 47(1), 27–50.
14. Sato Y, Nanri H, Ohta M, Kasai H, Ikeda M. Increase of human MTH1 and decrease of 8-hydroxydeoxyguanosine in leukocyte DNA by acute and chronic exercise in healthy male subjects . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. 305 : 333 – 338 .
15. Kristenson M, Kucinskienė Z, Schäfer-Elinder L, Leanderson P, Tagesson C. Lower serum levels of beta-carotene in Lithuanian men are accompanied by higher urinary excretion of the oxidative DNA adduct, 8-hydroxydeoxyguanosine. The LiVicordia study. *Nutrition*. 2003 Jan;19(1):11-5.
16. Peake JM, Suzuki K, Coombes JS. The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. *J Nutr Biochem*. 2007 Jun;18(6):357-71.
17. Mastaloudis A, Yu TW, O'Donnell RP, Frei B, Dashwood RH, Traber MG. Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay. *Free Radic Biol Med*. 2004;36:966–975.
18. Wagner KH, Reichhold S, Hölzl C, Knasmüller S, Nics L, Meisel M, et al. Well-trained, healthy triathletes experience no adverse health risks regarding oxidative stress and DNA damage by participating in an ultra-endurance event. *Toxicology*. 2010;278:211–216.
19. Iddir M, Brito A, Dingeo G, et al. Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients*. 2020;12(6):1562.

20. Mannato LW. Questionário de frequência alimentar ELSA-Brasil: proposta de redução e validação da versão reduzida. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) Universidade Federal do Espírito Santo. 2013.
21. Milić M, Ožvald I, Matković K, Radašević H, Nikolić M, et al. Combined Approach: FFQ, DII, Anthropometric, Biochemical and DNA Damage Parameters in Obese with BMI ≥ 35 kg m⁻². *Nutrients*. 2023. 15(4), 899.
22. Huang P, Huang B, Weng H, Nakayama K, Morimoto K. Effects of lifestyle on micronuclei frequency in human lymphocytes in Japanese hard-metal workers, *Prev. Med*, 2009, vol. 48 (pg. 383-388)
23. López-Torres M, Gredilla R, Sanz A, Barja G. Influence of aging and long-term caloric restriction on oxygen radical generation and oxidative DNA damage in rat liver mitochondria. *Free Radic Biol Med*. 2002. 32(9):882-9.
24. Prado RP, Santos BF, Pinto CLS, Assis KRC, Salvadori DMF, Ladeira MSP. Influence of diet on oxidative DNA damage, uracil misincorporation and DNA repair capability, *Mutagenesis*. 2010. Volume 25, Issue 5, Pages 483–487
25. Turner-McGrievy GM, Wirth MD, Shivappa N, Wingard EE, Fayad R, Wilcox S, Frongillo EA, Hébert JR. Randomization to plant-based dietary approaches leads to larger short-term improvements in Dietary Inflammatory Index scores and macronutrient intake compared with diets that contain meat. *Nutr Res*. 2015. 35(2):97-106. .
26. Kazimírová A, Barancoková M, Volkovová K, Staruchová M, Krajcovicová-Kudlácková M, Wsólová L, Collins AR, Dusinská M. Does a vegetarian diet influence genomic stability? *Eur J Nutr*. 2004. 43(1):32-8.
27. Del Bo' C, Marino M, Martini D, Tucc M, Ciappellano S, Riso P, et al.. Overview of Human Intervention Studies Evaluating the Impact of the Mediterranean Diet on Markers of DNA Damage. 2019. *Nutrients*, 11(2), 391.
28. Müllner E, Brath H, Pleifer S, Schiermayr C, Baierl A, Wallner M, Fastian T, Millner Y, Paller K, Henriksen T, Poulsen HE, Forster E, Wagner KH. Vegetables and PUFA-rich plant oil reduce DNA strand breaks in individuals with type 2 diabetes. *Mol Nutr Food Res*. 2013. 57(2):328-38.

29. Quiles JL, Ochoa JJ, Ramirez-Tortosa C, Battino M, Huertas JR, Martín Y, Mataix J. Dietary fat type (virgin olive vs. sunflower oils) affects age-related changes in DNA double-strand-breaks, antioxidant capacity and blood lipids in rats. *Exp Gerontol.* 2004. 39(8):1189-98.
30. Jenkinson AM, Collins AR, Duthie SJ, Wahle KW, Duthie GG. The effect of increased intakes of polyunsaturated fatty acids and vitamin E on DNA damage in human lymphocytes. *FASEB J.* 1999. 13(15):2138-2142.
31. Elmadfa I, Park E. Impact of diets with corn oil or olive/sunflower oils on DNA damage in healthy young men. *Eur J Nutr.* 1999. 38(6):286-92.
32. Fenech M, Ferguson LR. Vitamins/minerals and genomic stability in humans. *Mutation research.* 2001. 475(1-2), 1–6.
33. Fenech MF, Bull CF, Van Klinken BJ. Protective Effects of Micronutrient Supplements, Phytochemicals and Phytochemical-Rich Beverages and Foods Against DNA Damage in Humans: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials and Prospective Studies. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.).* 2023. 14(6), 1337–1358.
34. Ames BN. DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. *Mutation research.* 2001. 475(1-2), 7–20.
35. Kim YJ, Ahn YH, Lim Y, Kim JY, Kim J, Kwon O. Daily nutritional dose supplementation with antioxidant nutrients and phytochemicals improves DNA and LDL stability: a double-blind, randomized, and placebo-controlled trial. *Nutrients.* 2013. 5(12), 5218–5232.
36. Verhagen H, Poulsen HE, Loft S, van Poppel G, Willems MI, van Bladeren PJ. Reduction of oxidative DNA-damage in humans by brussels sprouts. *Carcinogenesis.* 1995. 16(4):969-70.
37. Witt EH, Reznick AZ, Viguie CA, Starke-Reed P, Packer L. Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J Nutr.* 1992. 122(3 Suppl):766-73
38. Duthie SJ, Ma A, Ross MA, Collins AR. Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res.* 1996. 56(6):1291-5.
39. Tröbs M, Renner T, Scherer G, Heller WD, Geiss HC, Wolfram G, Haas GM, Schwandt P. Nutrition, antioxidants, and risk factor profile of

- nonsmokers, passive smokers and smokers of the Prevention Education Program (PEP) in Nuremberg, Germany. *Prev Med.* 2002. 34(6):600-7.
40. Riso P, Pinder A, Santangelo A, Porrini M. Does tomato consumption effectively increase the resistance of lymphocyte DNA to oxidative damage? *Am J Clin Nutr.* 1999. 69(4):712-8.
 41. Porrini M, Riso P. Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption. *J Nutr.* 2000. 130(2):189-92.
 42. Zhu C, Poulsen HE, Loft S. Inhibition of oxidative DNA damage in vitro by extracts of brussels sprouts. *Free Radic Res.* 2000. 33(2):187-96.
 43. Sørensen M, Jensen BR, Poulsen HE, Deng X, Tygstrup N, Dalhoff K, Loft S. Effects of a Brussels sprouts extract on oxidative DNA damage and metabolising enzymes in rat liver. *Food Chem Toxicol.* 2001. 39(6):533-40.
 44. Cai Q, Wei H. Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in SENCAR mice. *Nutr Cancer.* 1996. 25(1):1-7.
 45. Mitchell JH, Collins AR. Effects of a soy milk supplement on plasma cholesterol levels and oxidative DNA damage in men-a pilot study. *Eur. J. Nutr.* 1999. 38 : 143 – 148 .
 46. Wei H, Zhang X, Zhao JF, Wang ZY, Bickers D, Lebowitz M. Scavenging of hydrogen peroxide and inhibition of ultraviolet light-induced oxidative DNA damage by aqueous extracts from green and black teas. *Free Radic Biol Med.* 1999. 26(11-12):1427-35.
 47. Schwartz JL, Muscat JE, Baker V, Larios E, Stephenson GD, Guo W, Xie T, Gu X, Chung FL. Oral cytology assessment by flow cytometry of DNA adducts, aneuploidy, proliferation and apoptosis shows differences between smokers and non-smokers. *Oral Oncol.* 2003. 39(8):842-54.
 48. Mizutani K, Ikeda K, Kawai Y, Yamori Y. Protective effect of resveratrol on oxidative damage in male and female stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2001. 28(1-2):55-9.
 49. Leighton F, Cuevas A, Guasch V, Pérez DD, Strobel P, San Martín A, Urzua U, Díez MS, Foncea R, Castillo O, Mizón C, Espinoza MA, Urquiaga I, Rozowski J, Maiz A, Germain A. Plasma polyphenols and antioxidants, oxidative DNA damage and endothelial function in a diet and wine intervention study in humans. *Drugs Exp Clin Res.* 1999. 25(2-3):133-41

50. Greenrod W, Stockley CS, Burcham P, Abbey M, Fenech M. Moderate acute intake of de-alcoholized red wine, but not alcohol, is protective against radiation-induced DNA damage ex vivo—results of a comparative in vivo intervention study in younger men, *Mutat. Res.*, 2005, vol. 591 (pg. 290-301)

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Maior potencial inflamatório da dieta, dano ao DNA e percentual de gordura, e menor tempo de atividade física em atletas soropositivos para SARS-COV-2

Caroline J Kuyven ^a, Chaiane A Tilton ^b, Priscila T Flores ^c, Joane S Ribeiro^d
Isadora O Monteiro^e, Vanessa M Andrade^f e Alessandra Peres^g

^a Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) - Brasil.

^b Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) - Brasil.

^c Doutoranda pelo Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) - Brasil.

^d Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) - Brasil.

^e Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) - Brasil

^f Professora Associada do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) - Brasil

^g Professora Associada do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) - Brasil.

Autor correspondente:

Alessandra Peres, PhD. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Endereço: Rua Sarmento Leite, 245, prédio 3, sala 803. Centro Histórico, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 90050-170, Brasil. Número de telefone: +55 (51) 999619331. E-mail: peres@ufcspa.edu.br

RESUMO

A COVID-19 provocou alterações temporárias e permanentes na saúde dos indivíduos, podendo gerar estresse oxidativo e dano ao DNA celular (DDC). A falta ou excesso de exercício físico é capaz de aumentar a inflamação e possibilita a geração de danos ao DNA. A alimentação rica em compostos inflamatórios e oxidantes é capaz de exacerbar ou atenuar tais malefícios. O presente estudo de caráter observacional teve a inclusão de atletas adultos de corrida (10 ou 21 km), com ou sem diagnóstico prévio de COVID-19. Foram realizadas coletas sanguíneas pré corrida, pós corrida imediata, e após 24 horas da corrida, a fim de avaliar o dano ao DNA através de ensaio cometa. Houve a aplicação de Índice Alimentar Inflamatório (IIA) para avaliação do perfil inflamatório alimentar.

Palavras-chave: coronavírus; estabilidade do DNA; treinamento físico; anti-inflamatório

INTRODUÇÃO

O coronavírus 2019 (COVID-19), cuja causa se dá pela infecção pelo coronavírus-2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-COV-2), foi reconhecido como pandemia pela Organização Mundial de Saúde no ano de 2020 (Souza et al, 2021). Foi demonstrado que pacientes infectados por COVID-19 apresentaram maior dano ao DNA celular (DDC), em comparação aos indivíduos sem a infecção (Grand, 2023), e este dano foi proporcional à gravidade dos sintomas dos pacientes (Basaran et al, 2023). Há a possibilidade da permanência da geração desse dano à longo prazo na condição pós-COVID-19, devido a presença de vírus residual ou ainda latente remanescente após a recuperação do indivíduo (Stein et al, 2022).

O DDC se apresenta como um marcador de exposição a agentes que afetam negativamente o DNA. Várias lesões ao DNA ocorrem em nossas células diariamente, sejam elas por fatores exógenos ou endógenos, como através do estresse oxidativo - desequilíbrio entre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS) e mecanismos de defesa antioxidante - e inflamação. No entanto, quase todos os DDC são reparados através de uma maquinaria que identifica possíveis lesões. Todavia, quando não reparados, seu acúmulo pode levar ao rápido envelhecimento, à mutagênese, e à carcinogênese (Azqueta, 2020).

Vários fatores contribuem para a homeostasia do sistema imune e a manutenção dos processos de reparação do DNA. Macronutrientes, como a proteína, são necessários para produção de anticorpos. Micronutrientes, como o zinco e a vitamina A, em seu estado deficitário, estão associados ao aumento do risco infeccioso. Componentes antioxidantes e anti-inflamatórios são essenciais para o combate ao estresse oxidativo e processos inflamatórios exacerbados, como visualizado na infecção por SARS-COV-2 (Iddir et al, 2020). Além disso, vários micronutrientes estão envolvidos como cofatores em reações de manutenção do DNA, apresentando extrema importância para o bom funcionamento de reparo ao dano (Prado et al, 2010).

Compostos anti-inflamatórios como fibras, ômega-3, fitoquímicos como carotenóides e polifenóis, vitaminas e minerais podem ser mensurados através de ferramentas como o Índice Inflamatório Alimentar (IIA). O efeito anti-inflamatório dos alimentos respeita uma curva em formato de "U", em que os pontos finais da curva, ou seja, as deficiências nutricionais ou a presença de compostos anti-inflamatórios em excesso, podem contribuir para o DDC (Hao et al, 2024).

O exercício físico, cujo efeito mostra-se semelhante à dose-resposta alimentar, apresenta caráter benéfico quando em níveis adequados, e torna-se maléfico quando em insuficiência ou em excesso. Exercícios moderados e com períodos de recuperação apropriados geram baixos níveis de formação de EROS, que podem estimular mecanismos de adaptação: favorecem a expressão de

enzimas antioxidantes e regulam positivamente o reparo de DNA (Wagner et al, 2011). Estudos indicam que apenas exercícios máximos de alta intensidade, treinamento excessivo, triatlos e/ou distâncias acima de 42 km podem induzir DDC permanentes, embora haja um aumento considerável de DDC imediatamente após quaisquer intensidades de exercício aeróbico (Tryfidou et al, 2020).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o DDC em atletas com ou sem diagnóstico prévio para COVID-19, bem como a influência que o caráter inflamatório da dieta pode apresentar nesse dano. Nossa hipótese é que o diagnóstico prévio de COVID-19 acarretará na visualização de maiores níveis de DDC entre os atletas soropositivos, além da contribuição do caráter inflamatório da dieta amplificando esse dano.

METODOLOGIA

Participantes

O cálculo amostral foi realizado através do programa GPower versão 3.1.3; Franz Faul, Universitat Kiel, Kiel, Germany. O tamanho da amostra foi calculado com base em dados do dano de DNA de corredores (Fogarty et al, 2013), tendo sido adotado um tamanho de efeito grande de 1,73; intervalo de confiança de 95%, erro padrão de 0,05% e um poder de 95%. Desta forma foi identificado um tamanho amostral mínimo de 18 participantes, e, tendo em vista a estimativa de

uma perda amostral de 20% dos participantes, o tamanho amostral encontrado foi de 22 participantes, sendo 11 indivíduos em cada grupo.

Os participantes foram recrutados através de contato com assessorias esportivas, cartaz digital e carta à universidade, e após preencherem os critérios de inclusão, foram incluídos para participação voluntária após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Os critérios de inclusão foram: idade superior a 18 anos e inferior a 60 anos; alfabetizados; mínimo de atividade física de 150 minutos semanais; praticantes de atividade física há pelo menos 6 meses. Os critérios de exclusão foram: gravidez, presença de doença inflamatória aguda e/ou infecção; uso de antiinflamatório no momento do estudo; presença de qualquer tipo de lesão na última semana pré coleta.

O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque, com aprovação no Comitê de Ética da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA, Brasil) sob o parecer número 6.591.081.

Desenho Geral do Estudo

Trata-se de um estudo observacional com coletas realizadas no período de janeiro a março de 2023 pelo Laboratório de Imunologia da UFCSPA. Os participantes foram divididos em dois grupos, sendo o primeiro (G1) indivíduos que obtiveram diagnóstico prévio auto referido de COVID-19, e o segundo (G2) indivíduos que não obtiveram diagnóstico prévio auto referido de COVID-19 ou

foram assintomáticos. A pesquisa foi realizada em dois dias consecutivos: no primeiro dia houve a coleta pelo pesquisador de dados antropométricos, aplicação de um questionário de frequência alimentar (QFA), coleta sanguínea pré-corrída, realização pelo participante de corrida de 10 km ou 21 km, e coleta sanguínea após corrida; no segundo dia houve apenas uma coleta sanguínea após 24 horas da corrida. Os participantes foram orientados a não realizar atividade física entre as coletas sanguíneas, com exceção da corrida prevista no projeto. A aplicação do questionário de dados gerais de identificação, socioeconômicos e de atividade física foi realizada virtualmente, sendo preenchida pelo próprio participante. Dados demográficos gerais e de atividade física dos participantes estão descritos na Tabela 1.

Avaliação Antropométrica

A coleta de dados antropométricos foi realizada por três nutricionistas capacitadas, sendo utilizado os seguintes equipamentos: balança com capacidade de 150Kg e precisão de 100g para aferição de peso, e para coleta das pregas cutâneas adipômetro científico da marca Cescorf® com sensibilidade 0,1mm e amplitude de leitura 88mm. Para a avaliação antropométrica foram utilizados os dados de peso corporal (kg) e estatura (m). Para avaliação da composição corporal dos homens foi utilizado o somatório de sete dobras cutâneas (torácica + axilar média + tríceps + subescapular + supra ilíaca + abdominal + coxa medial), através da equação preditiva de densidade corporal e

porcentagem de gordura para homens atletas de 18 a 61 anos de Jackson e Pollock (1978), e para as mulheres Jackson, Pollock e Ward (1980). O percentual de gordura (%BF) será calculado utilizando-se a equação de Siri (1961).

Questionário de Frequência Alimentar

A ingestão habitual de alimentos foi avaliada através de QFA semi-quantitativo específico do país retirado do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) em sua versão validada e reduzida (Mannato, 2013). O QFA avaliou o consumo médio de produtos alimentícios durante os últimos 12 meses à pesquisa e avaliou a frequência de consumo de 76 produtos, divididos em 7 grupos alimentares: pães, cereais e tubérculos; frutas; verduras, legumes e leguminosas; ovos, carnes, leites e derivados; massas e outras preparações; doces; bebidas. A frequência de consumo de alimentos selecionados foi avaliada com 9 respostas possíveis: consumo sazonal; nunca ou quase nunca; 1-3 vezes por mês; 1 vez por semana; 2-4 vezes por semana; 5-6 vezes por semana; 1 vez por dia; 2-3 vezes por dia; mais de 3 vezes por dia. O valor nutricional das dietas foi calculado com base na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (2023). As medidas caseiras foram convertidas em gramas segundo a Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras (Pinheiro et al, 2023).

Índice Inflamatório Alimentar

O IIA é uma ferramenta para avaliar a capacidade inflamatória da dieta, sendo descrita em detalhes em outro estudo (Riboldi et al, 2022). Em resumo, é um índice que representa um algoritmo de pontuação que dá ênfase aos grupos alimentares, e não aos nutrientes. O QFA foi utilizado como base para o cálculo do IIA de 18 alimentos ou grupos alimentares com potencial pró ou anti-inflamatório. Uma pontuação IIA alta (positiva) indica uma dieta pró-inflamatória, e valores baixos (negativos) representam uma dieta anti-inflamatória. Os alimentos com valores positivos utilizados neste estudo, em ordem decrescente, são: carne processada, carne de porco, refrigerante diet, refrigerante, carne vermelha, suco artificial diet, café com açúcar, suco artificial com açúcar, e cerveja. Os alimentos com valores negativos utilizados neste estudo, em ordem decrescente, são: frutas, grãos integrais, carne de frango, pizza, vinho, e oleaginosas. Uma pontuação foi atribuída para cada variável alimentar, variando entre -4,6 (ou seja, fortemente anti-inflamatória) a +2,2 (fortemente pró-inflamatória) nesse estudo. Essa pontuação foi então multiplicada pelo consumo diário em gramas de cada alimento ou grupo alimentar, e posteriormente somada, para assim obter a pontuação do IIA para cada participante.

Coleta Sanguínea e Ensaio Cometa

Para coleta sanguínea, profissionais capacitados foram orientados a coletar de participantes 4 mL de sangue venoso através de punção na veia antecubital

em tubos contendo EDTA, sendo separados em alíquotas, as quais foram congelados a -80°C para posteriores análises. As coletas sanguíneas foram realizadas pré exercício, após exercício, e 24 horas após exercício.

O ensaio cometa foi realizado sob condições alcalinas, conforme descrito por Singh et al. (1988), com algumas modificações sugeridas por Tice et al. (2000). A análise do dano ao DNA foi realizada no Laboratório de Biomedicina Translacional da Universidade do Extremo Sul Catarinense (Brasil). As células do sangue (alíquotas de $5\ \mu\text{L}$) foram embebidas em agarose de baixo ponto de fusão (0.75%, w/v, $115\ \mu\text{L}$) e a mistura foi adicionada a uma lâmina de microscópio pré-coberta com agarose de ponto de fusão normal (1,5%), cobrindo posteriormente com uma lamínula e levado à geladeira por aproximadamente 5 minutos a 4°C para solidificação. Logo após, as lamínulas foram cuidadosamente retiradas e as lâminas imersas em tampão de lise (2,5M NaCl, 100mM EDTA e 10mM Tris, pH 10,0-10,5, com adição na hora do uso de 1% de Triton X – 100 e 10% de DMSO) a 4°C por um período mínimo de 1 hora e máximo de 1 semana.

As lâminas foram incubadas em tampão alcalino (300mM NaOH e 1mM EDTA, pH>13) por 20 minutos para o desenovelamento do DNA, a corrida eletroforética foi realizada no mesmo tampão nas seguintes condições: a 30v e 300mA por 35 minutos. Todas estas etapas foram realizadas sob luz indireta fraca amarela. Posteriormente as lâminas foram neutralizadas com 0,4M Tris (pH 7,5) e, ao final, o DNA foi corado Syber Gold (Invitrogen, EUA) para posterior análise.

Um total de 100 células por indivíduo (50 células por duplicata) foram analisadas usando o sistema de análise de imagem semi-automatizado Comet Assay IV (Perceptive Instruments, UK). As análises microscópicas foram realizadas em um microscópio de fluorescência (Eclipse E400, Nikon Instruments, Japão), com objetiva de 40X. A porcentagem de DNA na cauda do cometa (%DNA) foi o parâmetro usado para avaliar o dano do DNA.

As diretrizes internacionais e recomendações para o ensaio do cometa consideram que o escore visual de 100 cometas é um método de avaliação bem validado. Ele tem uma alta correlação com a análise de imagem por computador (Collins et al, 1997). Foram utilizados controles negativos e positivos para cada teste de eletroforese a fim de assegurar a confiabilidade do procedimento. Todas as lâminas foram codificadas para análise às cegas.

Análise Estatística

A análise estatística foi conduzida no programa estatístico SPSS 22.00 (SPSS Inc., EUA) e GraphPad Prism versão 8. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram expressos por medidas de tendência central e dispersão. As variáveis categóricas foram descritas por frequência e avaliadas pelo Teste Exato de Fisher ou Qui-Quadrado, e as contínuas, se distribuídas normalmente, por média e desvio padrão (SD), sendo comparadas pelo Teste t, e, caso contrário, por mediana e intervalo interquartil, sendo comparadas pelo Teste U de Mann-Whitney. Uma ANOVA

de dois fatores foi usada para comparar as médias paramétricas das amostras de danos ao DNA, seguida pelo teste post hoc de Tukey. Os coeficientes de correlação de Spearman foram utilizados para correlacionar as associações brutas entre variáveis contínuas. Um nível de significância estatística foi definido em $p < 0,05$.

Agradecimentos: os autores agradecem a todos os sujeitos pela participação no estudo, à Universidade Federal de Ciências da Saúde pelo apoio à pesquisa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição.

Autoria e Contribuições: Caroline J Kuyven: Concepção, coleta de dados, análise dos dados, elaboração do manuscrito, redação, discussão dos resultados. Chaiane A Titton: coleta de dados, discussão dos resultados. Priscila T Flores: coleta de dados. Joane S Ribeiro: coleta de dados, análise dos dados. Isadora O Monteiro: análise dos dados. Vanessa M Andrade: análise dos dados. Alessandra Peres: concepção, análise dos dados, revisão do manuscrito, recebimento de financiamento

Conflito de interesse: Declaramos não haver nenhum conflito de interesse.

Fontes de Financiamento: O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Edital PROPPG nº 24/2023, UFCSPA, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001. Alessandra Peres é bolsista de Produtividade em Pesquisa PQ2 do CNPq.

REFERÊNCIAS

Azqueta, A., Ladeira, C., Giovannelli, L., Boutet-Robinet, E., Bonassi, S., Neri, M., Gajski, G., Duthie, S., Del Bo', C., Riso, P., Koppen, G., Basaran, N., Collins, A., & Møller, P. (2020). Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective. *Mutation research. Reviews in mutation research*, 783, 108288.

Basaran, M. M., Hazar, M., Aydın, M., Uzuğ, G., Özdoğan, İ., Pala, E., Aydın Dilsiz, S., & Basaran, N. (2023). Effects of COVID-19 Disease on DNA Damage, Oxidative Stress and Immune Responses. *Toxics*, 11(4), 386.

Castoldi, R. C., de Ângelo, J. C., Pereira, T. T., Dias, R. M., & Negrão, F. J. (2023). Relationship between physical exercise and COVID-19 (SARS-CoV-2): systematic review. *Sport sciences for health*, 19(1), 55–67.

Collins, A. R., Dobson, V. L., Dusinská, M., Kennedy, G., & Stětina, R. (1997). The comet assay: what can it really tell us?. *Mutation research*, 375(2), 183–193.

Corrêa, C. R., da Costa, B. G. G., Silva, K. S., Shivappa, N., Wirth, M. D., Hébert, J. R., & Nunes, E. A. (2022). A higher energy-adjusted Dietary Inflammatory Index is positively associated with total and visceral body fat in young male adults. *Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association*, 35(6), 1136–1150.

El Khoury, C. N., & Julien, S. G. (2021). Inverse Association Between the Mediterranean Diet and COVID-19 Risk in Lebanon: A Case-Control Study. *Frontiers in nutrition*, 8, 707359.

Fenech, M., & Ferguson, L. R. (2001). Vitamins/minerals and genomic stability in humans. *Mutation research*, 475(1-2), 1–6.

Fogarty, M. C., Hughes, C. M., Burke, G., Brown, J. C., & Davison, G. W. (2013). Acute and chronic watercress supplementation attenuates exercise-induced peripheral mononuclear cell DNA damage and lipid peroxidation. *British Journal of Nutrition*, 109(2), 293–301.

García-Calzón, S., Zalba, G., Ruiz-Canela, M., Shivappa, N., Hébert, J. R., Martínez, J. A., Fitó, M., Gómez-Gracia, E., Martínez-González, M. A., & Martí, A. (2015). Dietary inflammatory index and telomere length in subjects with a high cardiovascular disease risk from the PREDIMED-NAVARRA study: cross-sectional and longitudinal analyses over 5 y. *The American journal of clinical nutrition*, 102(4), 897–904.

Grand R. J. (2023). SARS-CoV-2 and the DNA damage response. *The Journal of general virology*, 104(11), 001918.

Hao, X., Li, S., Yang, Y., Dai, H., Yan, Y., & Li, D. (2024). Association of dietary inflammatory index and the SARS-CoV-2 infection incidence, severity and

mortality of COVID-19: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Nutrition journal*, 23(1), 21.

Iddir, M., Brito, A., Dingeo, G., Fernandez Del Campo, S. S., Samouda, H., La Frano, M. R., & Bohn, T. (2020). Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients*, 12(6), 1562.

Ilie, P. C., Stefanescu, S., & Smith, L. (2020). The role of vitamin D in the prevention of coronavirus disease 2019 infection and mortality. *Aging clinical and experimental research*, 32(7), 1195–1198.

Jackson, A. S., & Pollock, M. L. (1978) Generalized equations for predicting body density of men. *British Journal of Nutrition*. Vol. 40. Num. 3. p. 497-504.

Jackson, A. S., Pollock, M. L., & Ward, A. (1980). Generalized equations for predicting body density of women. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 12, 175-182.

Mannato, L. W. (2013). Questionário de frequência alimentar ELSA-Brasil: proposta de redução e validação da versão reduzida. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória.

Kim, Y. J., Ahn, Y. H., Lim, Y., Kim, J. Y., Kim, J., & Kwon, O. (2013). Daily nutritional dose supplementation with antioxidant nutrients and phytochemicals

improves DNA and LDL stability: a double-blind, randomized, and placebo-controlled trial. *Nutrients*, 5(12), 5218–5232.

Milić, M.; Ceppi, M.; Bruzzone, M.; Azqueta, A.; Brunborg, G.; Godschalk, R.; Koppen, G.; Langie, S.; Møller, P.; Teixeira, J.P.; et al. (2021). The hCOMET project: International database comparison of results with the comet assay in human biomonitoring. Baseline frequency of DNA damage and effect of main confounders. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 787, 108371.

Milić, M., Ožvald, I., Matković, K., Radašević, H., Nikolić, M., Božičević, D., Duh, L., Matovinović, M., & Bituh, M. (2023). Combined Approach: FFQ, DII, Anthropometric, Biochemical and DNA Damage Parameters in Obese with BMI \geq 35 kg m⁻². *Nutrients*, 15(4), 899.

Payandeh, N., Shahinfar, H., Babaei, N., Davarzani, S., Ebaditabar, M., Djafarian, K., & Shab-Bidar, S. (2022). Association between the empirical dietary inflammatory index and cardiorespiratory fitness in Tehranian adults in 2017-2018. *Frontiers in nutrition*, 9, 928308

Pinheiro, A.B, Lacerda E. M. A., Benzecry, E. H., Gomes, M. C. S., & Costa, V. M. (2023). Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras – TMC. 6. ed. Atheneu. Rio de Janeiro.

Ponzo, V., Pellegrini, M., D'Eusebio, C., Bioletto, F., Goitre, I., Buscemi, S., Frea, S., Ghigo, E., & Bo, S. (2021). Mediterranean Diet and SARS-COV-2 Infection: Is There Any Association? A Proof-of-Concept Study. *Nutrients*, *13*(5), 1721.

Prado, R. P., Santos, B. F., Pinto C. L. S., Assis, K. R. C., Salvadori, D. M. F. & Ladeira, M. S. P. (2010). Influence of diet on oxidative DNA damage, uracil misincorporation and DNA repair capability, *Mutagenesis*. Volume 25, Issue 5, Pages 483–487.

Riboldi, B. P., Luft, V. C., Bracco, P. A., de Oliveira Cardoso, L., Molina, M. D. C., Alvim, S., Giatti, L., Schmidt, M. I., & Duncan, B. B. (2022). The inflammatory food index and its association with weight gain and incidence of diabetes: Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, *32*(3), 675–683.

Ryu, J. H., Paik, I. Y., Woo, J. H., Shin, K. O., Cho, S. Y., & Roh, H. T. (2016). Impact of different running distances on muscle and lymphocyte DNA damage in amateur marathon runners. *Journal of physical therapy science*, *28*(2), 450–455.

Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., & Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental cell research*, *175*(1), 184–191

Siri, W.E. (1961) Body composition from fluid spaces and obesity: analysis of methods. IN Brozek, J.; Henschel, A. Techniques for measuring body composition. National Academy of Sciences.

Souza, A. S. R., Amorim, M. M. R., Melo, A. S. de O., Delgado, A. M., Florêncio, A. C. M. C. da C., Oliveira, T. V. de ., Lira, L. C. S., Sales, L. M. dos S., Souza, G. A., Melo, B. C. P. de ., Morais, Í., Katz, L., & .. (2021). General aspects of the COVID-19 pandemic. *Revista Brasileira De Saúde Materno Infantil*, 21, 29–45.

Stein, S. R., Ramelli, S. C., Grazioli, A., Chung, J. Y., Singh, M., Yinda, C. K., Winkler, C. W., Sun, J., Dickey, J. M., Ylaya, K., Ko, S. H., Platt, A. P., Burbelo, P. D., Quezado, M., Pittaluga, S., Purcell, M., Munster, V. J., Belinky, F., Ramos-Benitez, M. J., Boritz, E. A., ... Chertow, D. S. (2022). SARS-CoV-2 infection and persistence in the human body and brain at autopsy. *Nature*, 612(7941), 758–763.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (2023). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo. [Acesso em 2024]. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.

Tice, R. R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J. C., & Sasaki, Y. F. (2000). Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and molecular mutagenesis*, 35(3), 206–221.

Tryfidou, D. V., McClean, C., Nikolaidis, M. G., & Davison, G. W. (2020). DNA Damage Following Acute Aerobic Exercise: A Systematic Review and Meta-analysis. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, *50*(1), 103–127.

Wagner, K. H., Reichhold, S., & Neubauer, O. (2011). Impact of endurance and ultraendurance exercise on DNA damage. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1229*, 115–123.

Yazdanpanah, M. H., Mardani, M., Osati, S., Ehrampoush, E., Davoodi, S. H., & Homayounfar, R. (2023). COVID-19 Induces Body Composition and Metabolic Alterations. *Cureus*, *15*(1), e34196

Zhang, J., Taylor, E. W., Bennett, K., Saad, R., & Rayman, M. P. (2020). Association between regional selenium status and reported outcome of COVID-19 cases in China. *The American journal of clinical nutrition*, *111*(6), 1297–1299.

Zhang, X., Li, X., Sun, Z., He, Y., Xu, W., Campbell, H., Dunlop, M. G., Timofeeva, M., & Theodoratou, E. (2020). Physical activity and COVID-19: an observational and Mendelian randomisation study. *Journal of global health*, *10*(2), 020514.

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Título do estudo: Estudo do perfil alimentar e imunológico de atletas soropositivos para SARS-CoV-2

Pesquisadora: Priscila da Trindade Flores

Pesquisadora responsável: Prof.^a Dra. Alessandra Peres

Instituição: UFCSPA

Local da análise de dados: Laboratório de Imunologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Telefone para contato: (55) 991344971

E-mail para contato: prisciladatrindadeflores@gmail.com

Você está sendo convidado(a) a participar da coleta de dados desta pesquisa de forma totalmente voluntária e sem custos. Antes de concordar em participar desta pesquisa, é muito importante que você compreenda as informações e instruções contidas neste documento. Os pesquisadores deverão responder todas as suas dúvidas antes de decidir participar. A participação neste estudo é voluntária e livre, podendo ser cancelada em qualquer fase do processo. Não haverá compensação financeira para os participantes relacionada à sua participação. Ao participar do estudo você receberá uma via deste termo.

Com a participação neste estudo você contribuirá para a compreensão dos efeitos dos volumes de treino na resposta imunológica de atletas, bem como compreender se há correlação entre volume de treinamento físico e propensão a infecções de mucosas e sistema respiratório bem como na qualidade de vida. Considerando a pandemia da COVID-19, pretendemos verificar um possível impacto da COVID-19 no sistema imunológico e dano ao DNA dos atletas.

A coleta de dados para este estudo constará em responder uma ficha de anamnese com informações gerais e de saúde e questionário de rastreamento metabólico e qualidade de vida. Para avaliar a ingestão alimentar, você preencherá um recordatório alimentar e questionário de frequência alimentar (QFA). As orientações quanto ao preenchimento serão realizadas por acadêmico(a) treinado(a), com o objetivo de obter informações que permitam definir e quantificar a alimentação consumida, no período de referência, sem indução de respostas. Será necessário realizar o registro diário do treino.

Para avaliar seu perfil inflamatório e dano ao DNA, serão colhidas amostras de sangue, na sala de coleta do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade

Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, localizado no segundo andar do prédio II da universidade, por um profissional habilitado. Para coleta de sangue serão necessários em torno de 10 minutos. Nenhuma amostra de sangue será armazenada. O descarte será realizado em sacos brancos e a agulha será descartada imediatamente após o procedimento em recipientes apropriados para materiais perfuro cortantes. Todo o procedimento será realizado obedecendo às normas de biossegurança para material biológico. Também será medido seu peso, altura e dobras cutâneas nos dias das avaliações.

Os materiais serão preparados considerando todos os protocolos de segurança, com utilização de face shield, máscara de proteção e álcool em gel. Todos os procedimentos serão realizados obedecendo às normas de biossegurança para material biológico.

Sua participação nesta pesquisa é totalmente voluntária, e você poderá desistir após ter concordado em participar do estudo em qualquer momento, sem que haja nenhuma responsabilidade ou qualquer prejuízo. Informamos que não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação no estudo. Você também não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos. Com a participação na pesquisa terá como benefício os resultados das avaliações realizadas além da orientação a respeito de todas as avaliações; alimentar, composição corporal, perfil inflamatório.

Os riscos da participação na pesquisa são considerados de leves a moderados. Os leves devido a constrangimento para responder aos questionamentos ou cansaço devido à extensão dos instrumentos. Os riscos médios referem-se à coleta de sangue, que pode causar dor, desconforto, formação de hematomas e/ou outras lesões no local da coleta e, em alguns casos, pode haver ocorrência de desmaio. Caso ocorra, você será atendido e tratado por um profissional capacitado para a resolução do problema no próprio local, para estabelecer o seu bem-estar físico. E em caso de qualquer efeito adverso, comprovadamente decorrente da presente pesquisa, você será indenizado

Os dados levantados serão confidenciais, resguardando a identidade dos sujeitos, e poderão ser utilizados para estudos e publicações científicas, por 5 anos, mostrarão apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição ou qualquer informação relacionada à sua privacidade. Ficando sob responsabilidade dos pesquisadores para futuros estudos, desde que seja respeitada totalmente sua privacidade e confidencialidade. Os pesquisadores serão os únicos a ter acesso aos dados obtidos e tomarão todas as providências necessárias para manter o sigilo, mas sempre existe a remota possibilidade da quebra do sigilo, mesmo que involuntário e não intencional, cujas consequências

serão tratadas nos termos da lei. Assim, ciente e de acordo com o que foi anteriormente exposto,

Eu _____, portador (a) da carteira de identidade número _____, afirmo que, após a leitura deste documento e de esclarecimentos dados pelos pesquisadores, concordo com a realização desta pesquisa e autorizo minha participação, como também autorizo a publicação em meio acadêmico dos dados, informações e outros procedimentos coletados nesta pesquisa. Todas as minhas dúvidas foram esclarecidas e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento conforme minha necessidade. Considero-me igualmente informado: sobre os procedimentos nos quais estarei envolvido, dos riscos e benefícios esperados. Assinatura: _____

Porto Alegre, _____ de _____ de 2023.

Caso você tenha dúvidas ou solicite esclarecimentos, entrar em contato com o pesquisador responsável professora Alessandra Peres email: peres@ufcspa.edu.br e telefone: (51)99619331, ou com a autora Priscila da Trindade Flores email: priscilatrindadeflores@gmail.com e telefone (55)991344971, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA pelo telefone (51)3303-8804.

Observação: O presente documento baseado no item IV das Diretrizes e Normas Regulamentadoras para a pesquisa em saúde, do Conselho Nacional de Saúde (resolução 466/12), será assinado em suas vias, de igual teor, ficando uma via em poder do paciente ou de seu representante legal e outra com o pesquisador responsável.

Nome:	Data de Nascimento:
Sexo ressignado ao nascer:	Profissão:
Escolaridade:	Estado civil:
Tabagista: () Sim () Não () Eventualmente	Horas média de sono:
Medicamentos de uso contínuo (dose/frequência)	
Uso de anti-inflamatório nos últimos 15 dias? () Sim () Não.	
Uso de álcool: () Sim () Não. Consumo: () diário; () semanal; () eventual. Se sim, qual a quantidade em copos:	
Doenças associadas?	Cirurgia nos últimos 6 meses?
Possui doença inflamatória aguda? Se sim, qual?	
Hábito intestinal: () normal () constipado(a)	
Frequência de evacuações: () diária () a cada 2 dias () a cada 3 dias () _____	
Consumo de água você toma ao dia: _____ copos	

Modalidades esportivas realizadas:	Frequência semanal:
Há quanto tempo pratica?	Duração média do treino em horas:
Quanto a CORRIDA, pratica há quanto tempo? (meses ou anos)	

Duração média dos treinos de corrida:	Volume semanal dos treinos de corrida em Km:
Atualmente corre quantas vezes por semana?	
Compete a nível nacional ou internacional? () Sim () Não	
Faz acompanhamento com assessoria esportiva? () Sim () Não.	

Teve COVID-19 ? () Sim () Não.	Apresentou sintomas () Sim () Não
Quais?	
Precisou de internação? () Sim () Não.	
Foi vacinado para COVID-19? () Sim () Não	Detalhar esquema vacinal (tipos/datas):

Faz acompanhamento nutricional com nutricionista? () Sim () Não.	
Usa suplementos nutricionais?	Quem orientou? () Nutricionista () Outros
Nome comercial:	Quantidade?
Frequência diária:	Frequência semanal:
Uso de esteroides anabolizantes?	Quantidade?
Tempo de uso? Frequência?	

Avaliação antropométrica			
Peso (kg)			
Altura (cm)			
Tríceps (mm)			
Torácica(mm)			
Abdome (mm)			
Axilar média (mm)			
Subescapular (mm)			
Suprailíaca (mm)			
Coxa medial (mm)			