

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**

**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**

**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**EFEITOS DA DIETA, ATIVIDADE FÍSICA E ESTRESSE**

**PSICOLÓGICO NOS DANOS OXIDATIVOS DE**

**MULHERES JOVENS**

**NATALIA STEDILE**

**Caxias do Sul**

**2014**

**NATALIA STEDILE**

**EFEITOS DA DIETA, ATIVIDADE FÍSICA E ESTRESSE  
PSICOLÓGICO NOS DANOS OXIDATIVOS DE  
MULHERES JOVENS**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
graduação em Biotecnologia da Universidade  
de Caxias do Sul, visando a obtenção do grau  
de Mestre em Biotecnologia.**

**Orientadora: Profa. Dra. Mirian Salvador**

**Co-orientador: Prof. Dr. João Antonio Pêgas Henriques**

**Caxias do Sul**

**2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Universidade de Caxias do Sul  
UCS - BICE - Processamento Técnico

S812e Stedile, Natalia, 1988-  
Efeitos da dieta, atividade física e estresse psicológico nos danos oxidativos de mulheres jovens / Natalia Stedile. – 2014.  
125 f. : il. ; 30 cm

Apresenta bibliografia.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2014.  
Orientadora: Profa. Dra. Mirian Salvador ; Coorientador: Prof. Dr. João Antonio Pêgas Henriques.

1. Antioxidantes. 2. Dieta. 3. Exercícios físicos. 4. Estresse - Mulheres. I. Título.

CDU 2.ed.: 66.094.3-097.8

Índice para o catálogo sistemático:

1. Antioxidantes	66.094.3-097.8
2. Dieta	613.2
3. Exercícios físicos	796
4. Estresse - Mulheres	159.944.4-055.2

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária  
Roberta da Silva Freitas – CRB 10/1730

**NATALIA STEDILE**

**EFEITOS DA DIETA, ATIVIDADE FÍSICA E ESTRESSE PSICOLÓGICO NOS  
DANOS OXIDATIVOS DE MULHERES JOVENS**

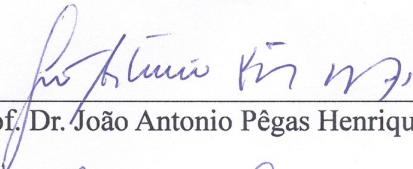
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
graduação em Biotecnologia da Universidade  
de Caxias do Sul, visando à obtenção do título  
de Mestra em Biotecnologia.

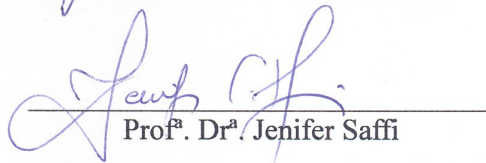
Orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Mirian Salvador


Co-orientador Prof. Dr. João Antonio Pêgas Henriques

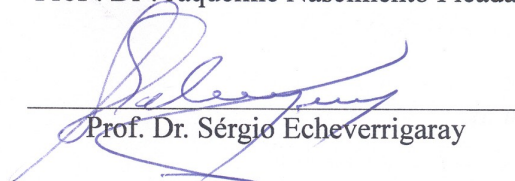
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26 DE SETEMBRO DE 2014.

  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Mirian Salvador

  
Prof. Dr. João Antonio Pêgas Henriques

  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Jenifer Saffi

  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Jaqueline Nascimento Picada

  
Prof. Dr. Sérgio Echeverrigaray

*Ao meu grande mestre, Deus.*

## AGRADECIMENTOS

Ao final desse trabalho, gostaria de agradecer:

A Deus, por sua presença e por permitir esta experiência.

À minha orientadora **Profa. Dra. Mirian Salvador**, pelo apoio, estímulo e encorajamento para a realização deste trabalho. Muito obrigada por me ensinar a aprender e por me ensinar a ter paciência. Agradeço também pela presença nos momentos de incertezas e desânimo e pelo auxílio durante as dificuldades em todas as etapas deste mestrado. E, acima de tudo, agradeço, por acreditar no meu trabalho.

Ao meu co-orientador, **Prof. Dr. João Antonio Pêgas Henriques**, por todas as importantes contribuições e esclarecimentos.

À **Profa. Dra. Karina Giane Mendes** e ao **Prof. Dr. Sergio Echeverrigaray** que, como membros da banca de acompanhamento, contribuíram com importantes e enriquecedoras sugestões e críticas.

Agradeço, especialmente, à **Profa. Dra. Raquel Canuto**, pela sua colaboração, disponibilidade e apoio indispensáveis ao sucesso deste trabalho.

À **Universidade de Caxias do Sul**, e ao apoio financeiro do **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS)**, **Coordenação de Apoio de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** e do **Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX)**.

A todos os colegas e amigos do **Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes**, que trabalharam como uma verdadeira equipe. Todos contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Às bolsistas de iniciação científica **Juliane Souza Sene** e **Adriana Stolfo**, pela dedicação, amizade e auxílio em todas as etapas deste trabalho.

Agradeço, especialmente, à ex-bolsista de iniciação científica **Camila Dallavechia de Col** pela amizade, companheirismo, paciência e dedicação. Muito obrigada por toda contribuição.

Às colegas de pós-graduação **Bruna Mara Postinger**, **Caroline Calloni**, **Cátia Santos Branco**, **Francine Girardello**, **Luciana Fernandes S. Santos** e **Márcia Denize Oliveira de Souza**, pela parceria, colaboração e amizade.

A todas as **voluntárias** que participaram desta pesquisa, tornando possível a realização deste mestrado.

Aos meus pais, **Rudinei** e **Vera**, por todo apoio e amor incondicional. Agradeço por me ensinarem a importância do estudo e por me proporcionarem todas as condições para a realização dos meus sonhos. E, acima de tudo, obrigada por acreditarem no meu potencial.

Aos meus irmãos, **Marco Antonio** e **Renata**, por estarem sempre presentes. Muito obrigada pela amizade, apoio e alegrias que vocês me proporcionam.

Agradeço, finalmente, ao meu namorado, **Rafael**, pela paciência e compreensão em todas as fases deste trabalho. Agradeço, também, pelo incentivo e encorajamento. Muito obrigada por todo carinho, amor e dedicação. Obrigada por fazer parte da minha vida.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	6
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	7
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	8
<b>RESUMO</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
2.1 Espécies reativas e defesas antioxidantes.....	16
2.1.1 Estresse oxidativo e danos a biomoléculas.....	21
2.2 Influência do estilo de vida no estresse oxidativo .....	24
2.2.1 Dieta .....	26
2.2.2 Atividade física e estresse psicológico.....	31
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	35
3.1 Objetivo geral.....	35
3.2 Objetivos específicos.....	35
<b>4. RESULTADOS</b> .....	36
Dietary total antioxidant capacity is associated with plasmatic antioxidant capacity, nutrient intake and lipid and DNA damage in healthy women.....	37
<b>5. DISCUSSÃO GERAL</b> .....	66
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	73
<b>7. PERSPECTIVAS</b> .....	75
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	76
<b>9. ANEXOS</b> .....	96
ANEXO I .....	97
TERMO DE CONSETIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....	97
ANEXO II .....	100
QUESTIONÁRIO SÓCIO-DEMOGRÁFICO.....	100
ANEXO III.....	102
REGISTRO ALIMENTAR DE UM DIA .....	102
ANEXO IV.....	104
RECORDATÓRIO ALIMENTAR ESPECÍFICO DE 24H .....	104
ANEXO V .....	106
Hospital Anxiety and Depression Scale .....	106
ANEXO VI.....	108
PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA .....	108
ANEXO VII .....	114
CURRICULUM VITAE DA CANDIDATA.....	114



## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO DA LITERATURA

<b>Figura 1</b>	Visão global da geração de espécies reativas e seus efeitos biológicos.....	17
<b>Figura 2</b>	Classificação e estrutura química das principais classes de polifenóis.....	20
<b>Figura 3</b>	O papel do estresse oxidativo no desenvolvimento de doenças.....	22
<b>Figura 4</b>	Procedimento do ensaio cometa e as imagens das classes de danos.....	25
<b>Figura 5</b>	Benefícios dos polifenóis para a saúde humana.....	27
<b>Figura 6</b>	Relações entre estresse psicológico e atividade física.....	34

### RESULTADOS

<b>Figure 1</b>	Spearman correlation between plasmatic total antioxidant capacity (PTAC) and dietary total antioxidant capacity (DTAC) (n=141).....	54
-----------------	---	----

## LISTA DE TABELAS

### RESULTADOS

<b>Table 1</b>	Socio-demographic, nutritional status and behavioral characteristics of the studied women.....	53
<b>Table 2</b>	Levels of nutrients intake and their correlations with dietary total antioxidant capacity (DTAC) and plasmatic total antioxidant capacity (PTAC).....	55
<b>Table 3</b>	Vitamin C and total polyphenols content of the 10 foods and beverages that most contributed to raise the dietary total antioxidant capacity (DTAC) of the volunteers.....	56
<b>Table 4</b>	Factorial analysis solutions after orthogonal varimax rotation to three factors for sample of adult women.....	57
<b>Table 5</b>	Analysis of simple and multiple linear regression of age, educational level, body mass index and nutrient patterns on dietary total antioxidant capacity (DTAC) and plasmatic total antioxidant capacity (PTAC).....	58
<b>Table 6</b>	Medians and means scores of the dietary total antioxidant capacity (DTAC), plasmatic total antioxidant capacity (PTAC), oxidative damage to lipids (TBARS), carbonylated proteins (CP), plasmatic cortisol and DNA damage index according to age, physical activity practice, body mass index (BMI) and levels of anxiety and depression.....	59
<b>Table 7</b>	Analysis of simple and multiple linear regression of age, physical activity practice, levels of anxiety and depression, body mass index, dietary total antioxidant capacity (DTAC), plasmatic total antioxidant capacity (PTAC) and levels of plasmatic cortisol on oxidative damage to lipids by measuring levels of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and DNA damage index.....	60

### DISCUSSÃO GERAL

<b>Tabela 1</b>	Ingestão insuficiente de micronutrientes pela população estudada.....	72
-----------------	---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS: 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

BMI: *Body Mass Index*

C: Celsius

CAT: Catalase

CI: *Confidential interval*

Cm: Centímetro

CP: *Carbonylated proteins*

DI: Distância interquartilica

dL: Decilitro

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DNPH: 2,4-dinitrofenilhidrazina

DRI: Ingestão Diária Recomendada – *Dietary Reference Intake*

DTAC: Capacidade antioxidante total da dieta – *Dietary total antioxidant capacity*

EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

ER: Espécies reativas

FRAP: Capacidade plasmática de redução de ferro

g: Grama.

GAE: Equivalentes de ácido gálico – *Gallic acid equivalent*

GPx: Glutathiona peroxidase

HADS: *Hospital Anxiety and Depression Scale*

IMC: Índice de Massa Corporal

IQR: *Interquartile range*

Kcal: *Kilocalorie*

kg: Quilograma

L: Litro

M: Molar

m<sup>2</sup>: Metros quadrados

mA: Miliampére

MDA: Malondialdeído

mg: Miligrama

mL: Mililitro

mM: Milimolar

mmol: Milimol

nmol: Nanomol

ORAC: Capacidade de absorbância do radical oxigênio

PC: Proteínas carboniladas

pH: Potencial Hidrogeniônico

PTAC: Capacidade Antioxidante Total do Plasma – *Plasmatic total antioxidant capacity*

PTN: Proteína

RL: Radicais livres

RNA: Ácido Ribonucleico

SD: *Standard deviation*

SOD: Superóxido dismutase

TAC: Capacidade antioxidante total

TBARS: Produtos reativos ao ácido tiobarbitúrico

TEI: Total energy intake

UV: Ultravioleta

V: Volt

VCE: Equivalentes de vitamina C – *Vitamin C equivalents*

µg: Micrograma

µL: Microlitro

## RESUMO

O consumo de alimentos ricos em antioxidantes, especialmente frutas e verduras, tem sido associado a menor incidência de doenças crônicas. Porém, sabe-se que a dieta apresenta uma grande quantidade de compostos ativos e que qualquer composto antioxidante e/ou alimento isolado pode não refletir o poder antioxidante total da dieta. Sendo assim, a estimativa da ingestão total de antioxidantes da dieta é importante para avaliar seus efeitos benéficos para a saúde. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi estimar a capacidade antioxidante total da dieta (DTAC) e sua relação com a capacidade antioxidante total do plasma (PTAC) e marcadores de danos a biomoléculas em mulheres saudáveis. Para isso, foi realizado um estudo com 141 mulheres com idade entre 18 e 35 anos. Foram excluídas as tabagistas e as que faziam uso de medicação contínua (com exceção de contraceptivo oral) e/ou suplementação antioxidante. Para determinar a DTAC foi aplicado um recordatório alimentar de 24 horas. A PTAC foi determinada através de um kit comercial. Foram avaliados os danos oxidativos aos lipídeos através da determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e às proteínas através da quantificação de proteínas carboniladas (PC). O ensaio cometa foi utilizado para avaliar os danos ao DNA. Além disso, avaliou-se a ingestão de nutrientes presentes na dieta. Foram avaliados, também, possíveis fatores de confusão, como a prática de atividade física e o estresse psicológico através de questionário autoaplicável (Hospital Anxiety and Depression Scale). A DTAC das voluntárias variou entre 9.62 e 2226.64 mg de equivalentes de vitamina C (VCE)/dia e os alimentos que mais contribuíram para aumentar a DTAC foram chimarrão, café, chá, laranja, suco de laranja, banana, maçã, feijão, suco de uva e brócolis. Estes alimentos são ricos em polifenóis e/ou vitamina C, compostos que foram positivamente correlacionados com a DTAC e com a PTAC, evidenciando a

importância destes antioxidantes na dieta humana. Foram identificados três padrões de ingestão de nutrientes, rotulados como Antioxidante, Complexo B e Proteína/Gordura. A PTAC da população estudada variou entre 0.78 e 2.26 mmol Trolox/L e observou-se uma correlação positiva entre os níveis de PTAC e DTAC, sugerindo que a DTAC é uma boa ferramenta para avaliar o *status* antioxidante da população. As voluntárias que praticavam atividade física 3 ou mais vezes por semana apresentaram a DTAC significativamente maior em comparação àquelas que não praticavam atividade física. A DTAC foi negativamente associada com os danos oxidativos aos lipídeos e o índice de danos ao DNA foi positivamente associado aos níveis plasmáticos de cortisol. Os dados obtidos neste trabalho contribuem para um melhor entendimento da relação entre DTAC e biomarcadores de danos oxidativos em mulheres brasileiras.

**Palavras-chave:** capacidade antioxidante total dietética, capacidade antioxidante total plasmática, estresse oxidativo, atividade física, estresse psicológico.

## **ABSTRACT**

The consumption of antioxidant-rich foods, especially fruits and vegetables, have been associated with a lower incidence of chronic diseases. However, it is known that diet has a lot of active compounds and none antioxidant compound and/or food alone may reflect the total antioxidant power of diet. Therefore, to estimate the total intake of dietary antioxidants is important to evaluate its beneficial health effects. In this context, the aim of this study was to estimate the dietary total antioxidant capacity (DTAC) and its relationship with the plasmatic total antioxidant capacity (PTAC) and markers of damage to biomolecules in healthy women. It was conducted a study with 141 women aged 18 to 35 years. Smokers and those using continuous medication (except oral contraceptives) and/or antioxidant supplementation were excluded. To determine the DTAC, it was applied a 24-hour recall. The PTAC was determined by commercial kit. Oxidative damage to lipids were evaluated by determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and damage to proteins by quantifying protein carbonyls groups (CP). Comet assay was used to assess DNA damage. Furthermore, we evaluated the intake of nutrients in the diet. Potential confounders factors, such as physical activity and psychological stress, were also evaluated. The DTAC of volunteers ranged from 9.62 to 2226.64 mg VCE/day and the foods that most contributed to increase the DTAC were mate, coffee, tea, orange juice, bananas, apples, beans, grape juice and broccoli. These foods are rich in polyphenols and/ or vitamin C, which were positively correlated with DTAC and the PTAC, showing the importance of these antioxidants in the human diet. It was identified three major nutrient patterns labeled as Antioxidant, B Complex and Protein/Fat. The PTAC of the population ranged from 0.78 at 2.26 mmol Trolox/L and there was a positive correlation between levels of

PTAC and DTAC, suggesting that DTAC may be a good tool to assess the antioxidant status of the population. Women who were engaged in physical activity 3 or more times per week had a significantly higher DTAC compared to those who did not exercise. Moreover, the DTAC was negatively associated with levels of oxidative lipid damage and the DNA damage index was positively associated with plasma cortisol levels. The data obtained in this study contribute to a better understanding of the relationship between DTAC and biomarkers of oxidative damage.

**Keywords:** dietary total antioxidant capacity, plasmatic total antioxidant capacity, oxidative stress, physical activity, psychological stress.



## 1. INTRODUÇÃO

Hábitos alimentares saudáveis fazem parte de estratégias para promoção da saúde e o consumo de frutas e vegetais está associado a menor incidência de doenças crônicas, como câncer e doenças cardiovasculares, e a melhor qualidade de vida (Grundy *et al.*, 1998; Haughton & Stang, 2012; Hammar & Ostgren, 2013; Bauer *et al.*, 2014). Não se sabe exatamente quais são os constituintes dos alimentos responsáveis por esta associação, mas é frequentemente assumido que os compostos antioxidantes exercem efeitos protetores contra estas doenças (Yang *et al.*, 2011).

Nas últimas décadas, muitos estudos avaliaram os efeitos de compostos antioxidantes e/ou alimentos individuais em relação à prevenção e ao desenvolvimento de doenças. Porém, sabe-se que a dieta apresenta uma grande quantidade de compostos ativos e que qualquer composto antioxidante e/ou alimento isolado pode não refletir o poder antioxidante total da dieta (Puchau *et al.*, 2009; Dilis & Trichopoulou, 2010). Sendo assim, o conceito de capacidade antioxidante total da dieta (DTAC) foi introduzido (Serafini & Del Rio, 2004). A DTAC considera os efeitos cumulativos e sinérgicos de todos os antioxidantes presentes nos alimentos, proporcionando assim um parâmetro integrado, ao invés de uma simples soma de antioxidantes mensuráveis (Yang *et al.*, 2011).

Além disso, a dieta também está associada ao estresse oxidativo (Møller *et al.*, 1996; Da Costa *et al.*, 2012), condição caracterizada por um excesso de produção de espécies reativas e/ou diminuição de defesas antioxidantes endógenas e exógenas. Essa condição conduz à oxidação de biomoléculas como ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas, com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, causando dano oxidativo tecidual (Halliwell, 2007). O estresse oxidativo

está associado a várias doenças, incluindo as doenças cardiovasculares, transtornos neurodegenerativos, câncer, diabetes tipo 2, entre outras (Da Costa *et al.*, 2012; Halliwell, 2012). Estas doenças são responsáveis por uma alta porcentagem de morbidade e mortalidade e preveni-las vêm sendo uma das prioridades da saúde pública. Além de uma dieta rica em antioxidantes, a prática regular de atividade física e o estresse psicológico podem influenciar os níveis de danos oxidativos, seja por redução dos níveis de estresse psicológico e/ou por modulação das defesas antioxidantes enzimáticas (Lesgards *et al.*, 2002; Epel, 2009; Corbi *et al.*, 2012).

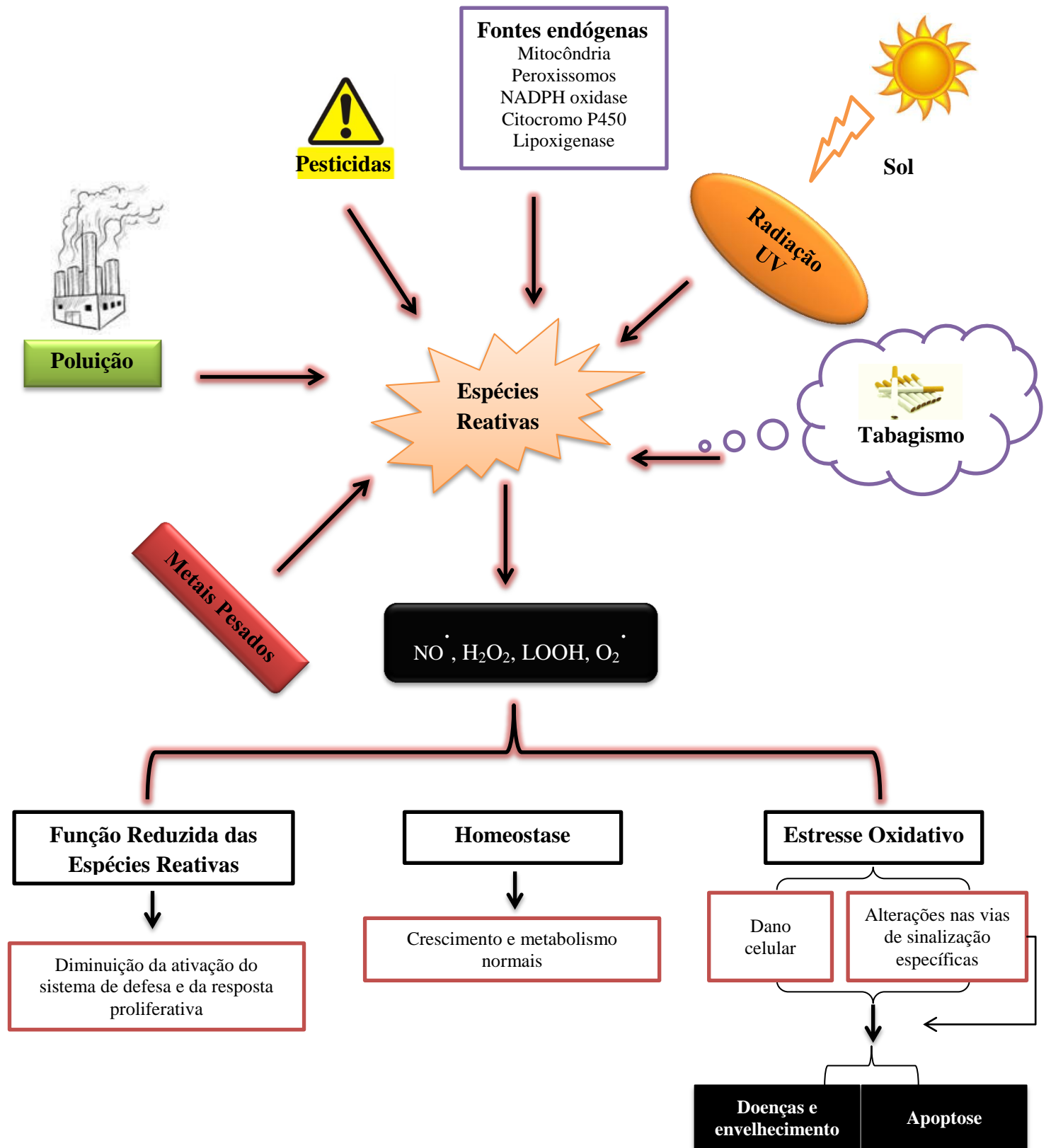
É consenso que um estilo de vida saudável (dieta adequada, prática de exercício físico e controle do estresse psicológico) desempenha um papel fundamental na prevenção de doenças. Em vista disso, este estudo teve como objetivo quantificar a capacidade antioxidante total da dieta (DTAC) de mulheres saudáveis e determinar sua relação com a capacidade antioxidante total plasmática (PTAC) e com marcadores de danos a biomoléculas. Além disso, também foram avaliados possíveis fatores de confusão, como a prática de atividade física e o estresse psicológico. Os dados obtidos neste trabalho mostram a relação entre a capacidade antioxidante total dietética e biomarcadores de estresse oxidativo em mulheres jovens, resultado, inédito no Brasil, que poderá contribuir para um melhor entendimento do metabolismo redox desta população. Estas informações poderão ser repassadas à população, colaborando para a redução dos danos oxidativos e doenças associadas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Espécies reativas e defesas antioxidantes

O termo espécies reativas (ER) é um termo coletivo, utilizado para incluir não apenas radicais livres (RL), mas também alguns compostos não radicalares capazes de gerar RL, como por exemplo, o peróxido de hidrogênio. Os RL são espécies químicas (átomos ou moléculas) que possuem um elétron desemparelhado em sua camada mais externa e, por isso, reagem fácil e rapidamente com outras moléculas com o objetivo de estabilizar o seu orbital de valência. Em nosso organismo são produzidas ER de oxigênio e nitrogênio, tais como: ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), óxido nítrico ( $NO^{\bullet}$ ), peroxinitrito ( $ONOO^{\bullet}$ ), radical hidroxila ( $HO^{\bullet}$ ), alcoxil ( $RO^{\bullet}$ ), peroxil ( $ROO^{\bullet}$ ), entre outros (Halliwell, 2007).

As ER podem ser formadas por vias exógenas, incluindo a exposição a fatores ambientais como a radiação ionizante, fumo, luz ultravioleta e a administração de alguns medicamentos e compostos xenobióticos (Halliwell, 2007), e endógenas, tais como a respiração celular, sinalização celular e inflamação, que podem resultar em dano oxidativo biologicamente relevante (Mateos & Bravo, 2007). Em condições fisiológicas, as ER formam-se em proporções controladas pelos mecanismos defensivos celulares. Por outro lado, em situações patológicas, essa produção pode aumentar exageradamente e causar danos às células (Halliwell, 2007) (**Figura 1**). Os efeitos deletérios das ER são minimizados pelos sistemas de defesa antioxidante (Jacob *et al.*, 2013).



**Figura 1.** Visão global da geração de espécies reativas e seus efeitos biológicos.

Adaptado de Ma, 2010; Aseervatham *et al.*, 2013.

Os antioxidantes são compostos que podem reduzir ou evitar os danos oxidativos, minimizando os efeitos biológicos nocivos às células (Wahlqvist, 2013). Podem ser divididos em enzimáticos e não enzimáticos. O sistema de defesa enzimático é representado principalmente pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatiónperoxidase (GPx). Já o sistema não enzimático é constituído por vitaminas, carotenoides e polifenóis, entre outros (Wojcik *et al.*, 2010).

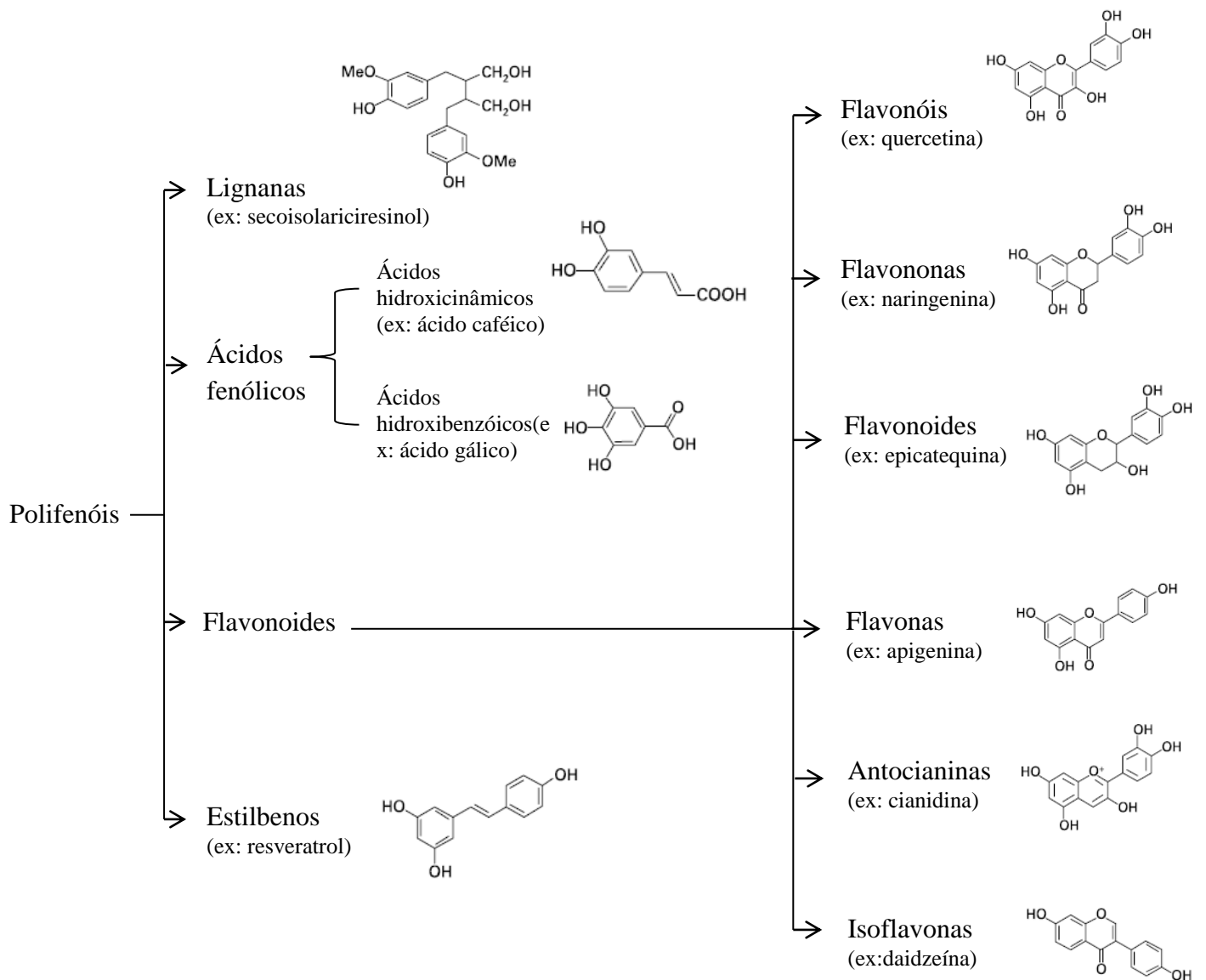
A vitamina C é um forte agente redutor, devido a sua facilidade em doar elétrons (National Research Council, 2000). Além disso, esta vitamina também é conhecida por regenerar outros antioxidantes, tais como a vitamina E e a glutatióna, mantendo uma rede equilibrada de antioxidantes (Rietjens *et al.*, 2002). Evidências epidemiológicas indicam que uma maior ingestão de alimentos naturais ricos em vitamina C e outros antioxidantes, como os polifenóis, estão associados à redução dos riscos de doenças cardiovasculares e vários tipos de câncer (Wojcik *et al.*, 2010; Gaziano *et al.*, 2010; Grosso *et al.*, 2013).

A vitamina E também possui propriedades antioxidantes importantes, devido à sua capacidade redutora de ER. A vitamina E exerce a importante função de proteger as membranas celulares e lipoproteínas do plasma contra a peroxidação lipídica, isto é possível porque a vitamina E tem uma grande afinidade com a redução de peroxilas, impedindo sua interação com a membrana fosfolipídica ou lipoproteínas (National Research Council, 2000). Uma vez oxidada, pode ser regenerada para o seu estado reduzido pela vitamina C, como mencionado anteriormente (Rietjens *et al.*, 2002). Esta vitamina antioxidante é bastante reconhecida pelos seus efeitos protetores contra o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e câncer (Sen *et al.*, 2007; Gaziano *et al.*, 2010; Vardi *et al.*, 2013).

Os carotenoides representam mais de 600 pigmentos lipossolúveis de plantas, incluindo  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, licopeno, luteína e zeaxantina, entre outros (Krinsky, 1993) e são considerados compostos antioxidantes importantes da dieta humana (Ciccone *et al.*, 2013). A ingestão de carotenoides está associada a menor incidência de doenças crônicas, como o câncer e doenças cardiovasculares (Hak *et al.*, 2004; Krinsky & Johnson, 2005; Ciccone *et al.*, 2013).

Os polifenóis são os antioxidantes mais abundantes na dieta humana (D'Archivio *et al.*, 2007) e, de forma geral, podem ser classificados, de acordo com seu esqueleto principal, em lignanas, ácidos fenólicos, flavonoides e estilbenos (**Figura 2**). Uma das principais classes de polifenóis é a classe dos flavonoides, que apresenta uma estrutura hidrocarbonada do tipo C6-C3-C6 (difetilpropano), derivada do ácido chiquímico e de três restos de acetato. Os flavonoides são divididos em seis subclasses: flavonóis, flavononas, flavonoides, flavonas, antocianinas e isoflavonas (Spencer *et al.*, 2008).

Os ácidos fenólicos são abundantes nos alimentos e podem ser classificados em derivados de ácido benzóico e derivados de ácido cinâmico. Polifenóis também incluem os estilbenos e lignanas, que são compostos encontrados em pequenas quantidades na dieta humana (Manach *et al.*, 2004; D'Archivio *et al.*, 2007). Além de antioxidante, os polifenóis apresentam, também, atividades antitrombótica, anti-inflamatória, antiviral, antialérgica, anticancerígena, neuroprotetora, hepatoprotetora, entre outras (Del Rio *et al.*, 2013).



**Figura 2.** Classificação e estrutura química das principais classes de polifenóis.

Adptado de Spencer *et al.*, 2008.

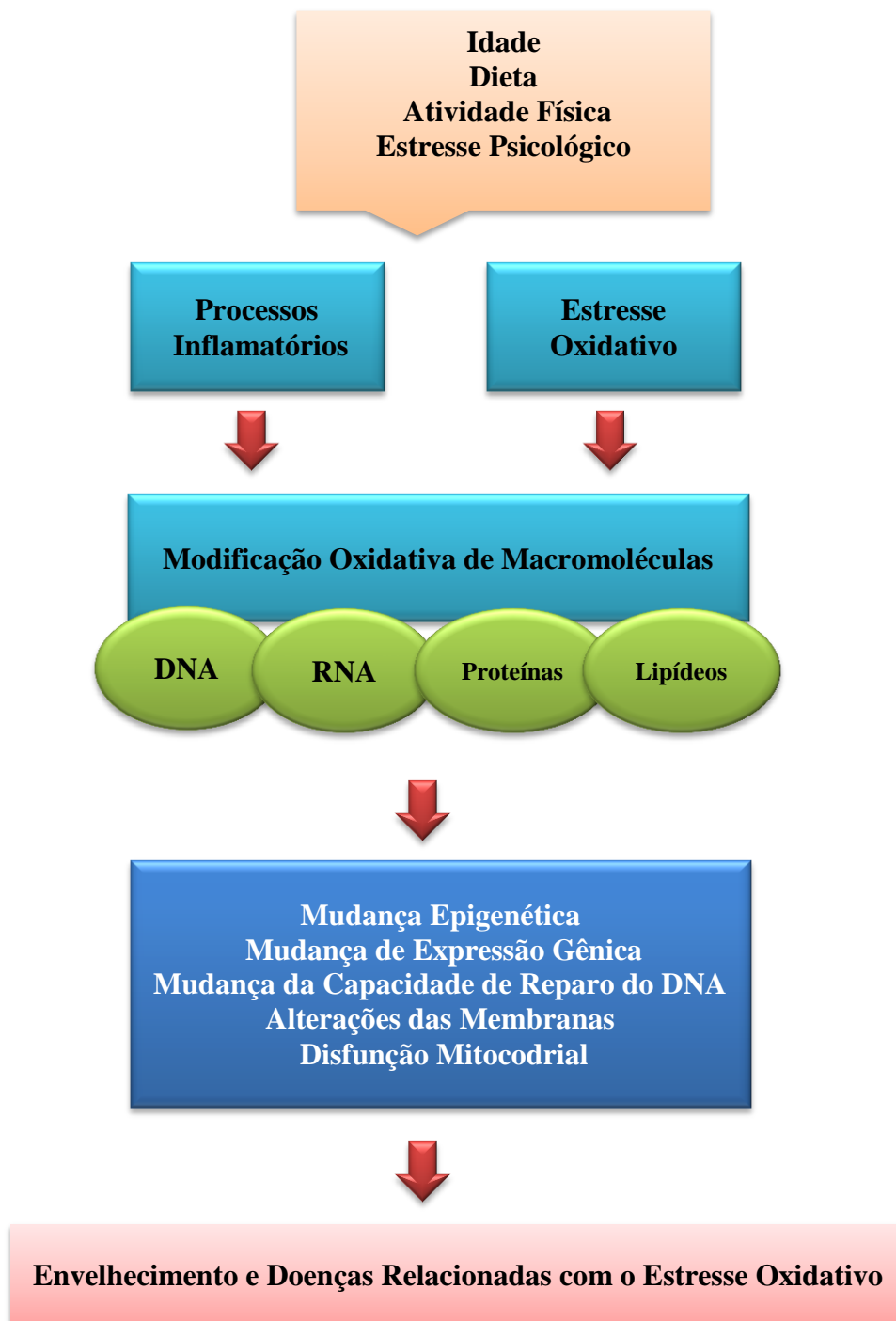
### 2.1.1 Estresse oxidativo e danos a biomoléculas

A produção elevada de ER e/ou a deficiência nos sistemas de defesa antioxidante resulta em uma condição conhecida como estresse oxidativo, caracterizada por uma alteração no equilíbrio entre a produção de ER e o sistema de defesa antioxidante que pode resultar em danos a lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos e, conseqüentemente, alterações na estrutura e no metabolismo das células (Mena *et al.*, 2009). O estresse oxidativo está associado ao desenvolvimento de várias doenças, incluindo doenças neurodegenerativas, diabetes, doenças cardiovasculares e câncer (Haliwell, 2012; González *et al.*, 2014; Borza, 2014; Kulkarni *et al.*, 2014).

Os danos oxidativos são modulados por fatores de risco não modificáveis (como idade) e fatores de risco modificáveis (como dieta, atividade física e estresse psicológico). Estes fatores podem influenciar o estresse oxidativo e os processos inflamatórios, e conseqüentemente, contribuir para o desenvolvimento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo e ao envelhecimento (Møller *et al.*, 1996; Jacob *et al.*, 2013). Estas interações resultam em modificações oxidativas de macromoléculas de DNA, RNA, proteínas e lipídeos (Jacob *et al.*, 2013) (**Figura 3**).

Os lipídeos, normalmente, aparecem oxidados em condições de estresse oxidativo. Os danos nestas macromoléculas ocorrem através de reações em cadeia, iniciando com o ataque de ER e provocando um aumento da permeabilidade da membrana celular para substâncias que normalmente não cruzam a bicamada lipídica levando a inúmeros eventos intracelulares. Entre os produtos finais da peroxidação lipídica estão compostos de baixo peso molecular, como hidrocarbonetos e aldeídos, por





**Figura 3.** O papel do estresse oxidativo no desenvolvimento de doenças.

Adaptado de Jacob *et al.*, 2013.

exemplo, o malondialdeído (MDA) (Halliwell & Gutteridge, 2007). Além disso, os produtos finais de peroxidação lipídica podem ser mutagênicos e cancerígenos, desempenhando um papel importante no desenvolvimento e progressão de doenças (Jacob *et al.*, 2013). A determinação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um método bastante utilizado para medir a peroxidação de ácidos graxos e membranas celulares, sendo um importante indicativo dos níveis de dano oxidativo lipídico. Esse método detecta não somente o MDA, mas também outros aldeídos produzidos na lipoperoxidação (Halliwell & Gutteridge, 2007).

As proteínas também são danificadas por ER e estes danos podem inibir/alterar a função de receptores, enzimas, anticorpos e proteínas de transporte, e em alguns casos, de forma definitiva. A carbonilação de proteínas pode ocorrer pela oxidação direta dos aminoácidos das cadeias laterais, pela interação das proteínas com produtos finais da peroxidação lipídica, como o 4-hidroxinonal e também através de reações de glicação (Chakravarti & Chakravarti, 2007). A avaliação dos danos oxidativos nas proteínas pode ser realizada através da reação dos grupos carbonílicos com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), formando 2,4-dinitrofenilhidrazona (Levine *et al.*, 1990).

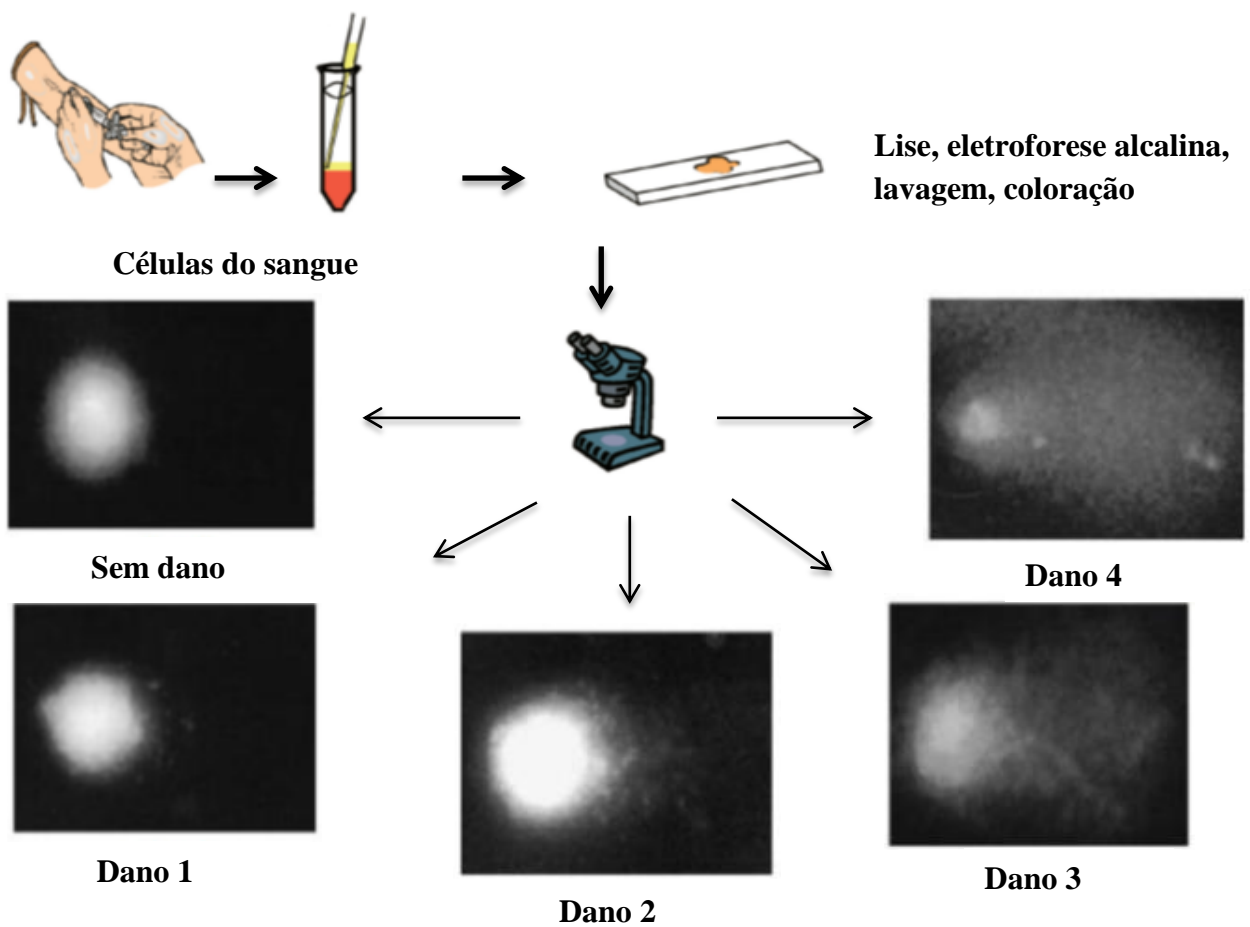
Além de proteínas e lipídeos, as ER podem lesar, também, o DNA. As lesões genotóxicas são caracterizadas por uma alteração química e/ou física em um ácido nucleico que leva ao prejuízo de funções, como a replicação e a transcrição, processos que necessitam que o DNA esteja intacto (Singh *et al.*, 1988). A determinação das lesões ao DNA pode ser medida pelo ensaio cometa, que é um método econômico e simples, pois exige apenas um pequeno número de células, o que é uma grande vantagem quando o ensaio é realizado em amostras humanas. Este método não detecta

mutações, mas sim lesões genômicas que, se não reparadas, podem resultar em mutações (Wasson *et al.*, 2008).

Para a realização do ensaio cometa, as células em gel são dispostas sobre lâminas e submetidas a uma corrente elétrica que propicia a migração dos fragmentos de DNA para fora do núcleo na presença de dano. Após a eletroforese, as células que apresentam um núcleo redondo são identificadas como normais, sem dano perceptível ao DNA. As células que apresentam qualquer tipo de lesão são identificadas visualmente por uma espécie de cauda formada pelos fragmentos de DNA, similar a de um cometa e, então, são classificadas de acordo com o tamanho desta cauda formada. Assim, tem-se que a classe 0 corresponde a uma célula sem cauda, ou seja, sem dano; na classe 1, a cauda é menor que o diâmetro do núcleo; na classe 2, a cauda se apresenta com comprimento entre uma a duas vezes o diâmetro do núcleo; na classe 3, a cauda é longa, apresentando comprimento superior a duas vezes o diâmetro do núcleo; e, na classe 4, a cauda é longa e bastante espalhada (Olive & Banáth, 2006; Collins *et al.*, 2008) (**Figura 4**).

## **2.2 Influência do estilo de vida no estresse oxidativo**

Já foi descrito, anteriormente, que o estresse oxidativo é modulado por fatores modificáveis e não modificáveis. Os fatores modificáveis que influenciam o estado antioxidante e/ou a geração de ER, incluem dieta, atividade física e estresse psicológico, entre outros.



**Figura 4.** Procedimento do ensaio cometa e as imagens das classes de danos.

Adaptado de Møller, 2006; Heuser *et al.*, 2007.

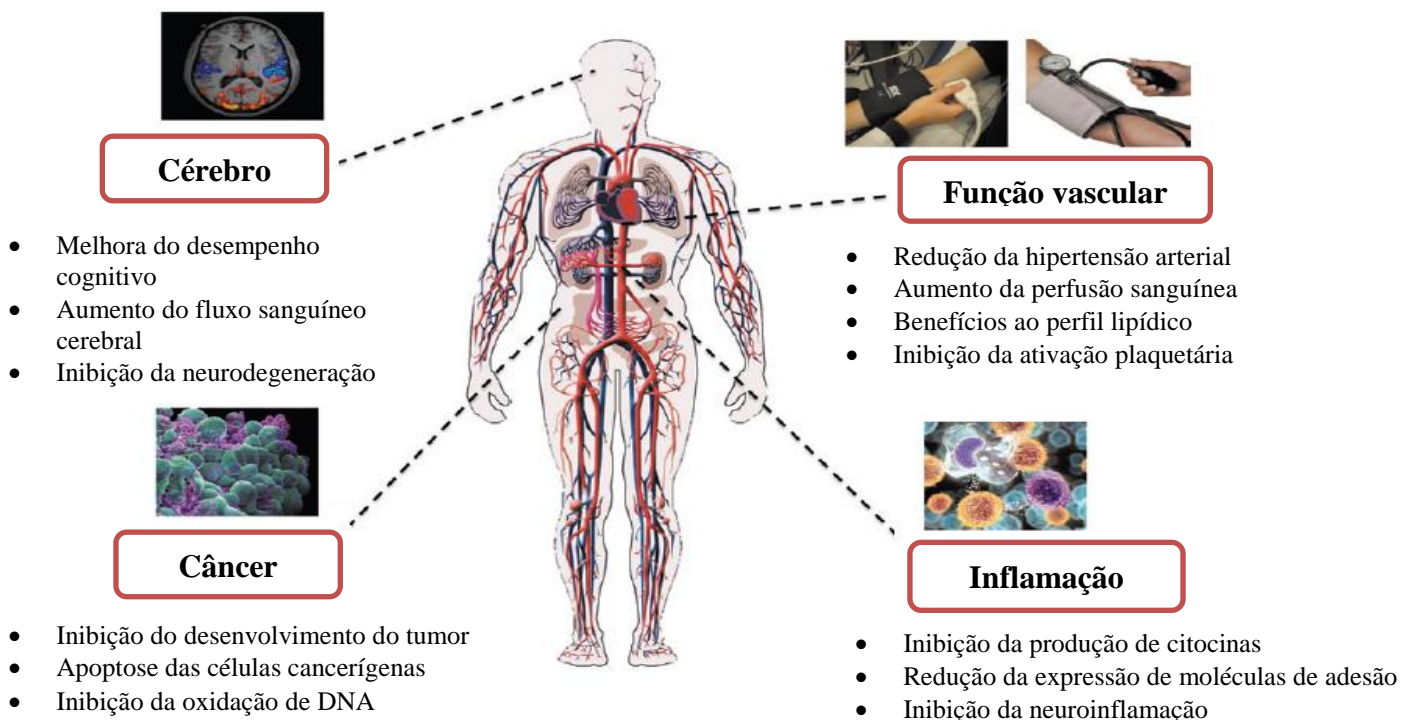
### 2.2.1 Dieta

Existem muitas evidências científicas descrevendo os efeitos de vários fatores dietéticos sobre o estresse oxidativo e a saúde humana, sendo que a alimentação desempenha um papel importante na prevenção de doenças crônicas como obesidade, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares, câncer, entre outras (Grundy *et al.*, 1998; WHO & FAO, 2002; Da Costa *et al.*, 2012; De Pergola & Silvestris, 2013; Threapleton *et al.*, 2013; Rahati *et al.*, 2014). Não se sabe exatamente a quais constituintes dietéticos atribuir esta associação, mas é frequentemente assumido que os antioxidantes, presentes nestes alimentos, representam um papel importante na prevenção destas doenças (Yang *et al.*, 2011).

Alimentos de origem vegetal, especialmente frutas e verduras, apresentam compostos antioxidantes, incluindo a vitamina C, vitamina E, carotenoides e polifenóis, que podem proteger as células dos danos causados pelas ER (Wang *et al.*, 2012). Estes efeitos benéficos de frutas e vegetais têm sido largamente atribuídos aos polifenóis, que são os antioxidantes mais abundantes na dieta humana (Manach *et al.*, 2004; Del Rio *et al.*, 2013). Os polifenóis são amplamente encontrados em frutas, legumes, cereais, azeites, leguminosas, chocolate e bebidas, tais como chá, café e vinho (D'Archivio *et al.*, 2007). A média de consumo de polifenóis na dieta humana é de 1g/dia (Scalbert & Williamson, 2000; Kühnau, 1976). Este valor é, aproximadamente, 10 vezes maior do que a ingestão de vitamina C e 100 vezes maior que a ingestão de vitamina E e carotenoides (Scalbert & Williamson, 2000; Manach *et al.*, 2004).

As propriedades biológicas dos polifenóis são dependentes da sua biodisponibilidade, que, por sua vez, é fortemente influenciada pelo grau de

polimerização. Além disso, a flora intestinal desempenha um papel chave na biodisponibilidade destes compostos, particularmente após a ingestão de alimentos contendo polifenóis de alto peso molecular (Cardona *et al.*, 2013). Os polifenóis, mesmo com baixa absorção, podem proteger as células contra os danos oxidativos e, conseqüentemente, diminuir o risco de desenvolvimento de várias doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo. Estudos experimentais mostram evidências de que os polifenóis podem prevenir doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose, diabetes mellitus e doenças neurodegenerativas (Scalbert *et al.*, 2005; Sies, 2010; Del Rio *et al.*, 2013; ). Um resumo dos efeitos potenciais dos polifenóis dietéticos em seres humanos encontra-se ilustrado na **Figura 5**.



**Figura 5.** Benefícios dos polifenóis para a saúde humana.

Adaptado de Del Rio *et al.*, 2013.

Embora os polifenóis sejam os antioxidantes mais abundantes na dieta humana, outros nutrientes, como as vitaminas C e E, são considerados antioxidantes eficientes e muitos estudos *in vivo* e *in vitro* avaliaram seus efeitos na fisiopatologia de várias doenças crônicas. A vitamina C deve ser adquirida a partir de fontes alimentares, tendo em vista que os seres humanos são incapazes de sintetizá-la. O consumo diário de vitamina C deve ser de aproximadamente 75 mg para mulheres e 90 mg para os homens (Wojcik *et al.*, 2010), e a mesma pode ser encontrada em alimentos como frutas e hortaliças. As frutas mais ricas em vitamina C são melão, kiwi, manga, morango e mamão, mas esta vitamina também pode ser encontrada em hortaliças como brócolis, couve de bruxelas, repolho, couve-flor, couve e pimentões verde e vermelho (Levine *et al.*, 1999).

A vitamina C desenvolve um papel essencial na biossíntese de tecido conjuntivo e a sua deficiência resulta em escorbuto, uma doença que leva à deterioração da produção de colágeno e resulta na fragilização de vasos sanguíneos e diminuição da cicatrização de lesões. Além disso, a vitamina C também é um forte agente redutor, devido a sua facilidade em doar elétrons (National Research Council, 2000), podendo inativar uma variedade de ER e assim minimizar os danos causados às células e tecidos. Estudos epidemiológicos têm mostrado que a vitamina C pode proteger contra o desenvolvimento de doenças crônicas (Wojcik *et al.*, 2010; Gaziano *et al.*, 2010; Grosso *et al.*, 2013).

A vitamina E é considerada um importante antioxidante dietético e pode ser encontrada em alimentos como nozes, óleos vegetais, tais como o óleo de girassol e de canola, grãos de cereais, tais como trigo, arroz e cevada (Sundram *et al.*, 2003). Há uma variedade de moléculas de vitamina E que diferem na estrutura e suas várias formas

diferem significativamente nas suas funções metabólicas e biodisponibilidade. Nos seres humanos, cerca de 90% da vitamina E é encontrada sob a forma de  $\alpha$ -tocoferol (National Research Council, 2000; Lodge *et al.*, 2004). O consumo de vitamina E tem resultado em efeitos benéficos em relação à prevenção de doenças crônicas (Wright *et al.*, 2007; Gaziano *et al.*, 2010; Vardi *et al.*, 2013).

Aproximadamente 40 micronutrientes, como vitaminas, sais minerais e outros componentes são necessários, em pequenas quantidades para o funcionamento adequado do metabolismo (Prado *et al.*, 2010). As variações no consumo de micronutrientes estão relacionadas com a instabilidade do genoma, como detectado pelo aumento da incidência dos danos e mutações ao DNA (Fenech & Ferguson, 2001). Além disso, a ingestão insuficiente de micronutrientes, tais como folato, vitaminas B3, B6, B12, C e E, ferro e zinco podem reduzir o efeito da radiação ou de agentes químicos, induzindo a danos ao DNA e conseqüentemente ao desenvolvimento de doenças, como quando ocorre a deficiência de folato, que está associada com anemia megaloblástica, defeitos de fechamento do tubo neural em recém-nascidos, doenças cardíacas e desenvolvimento de câncer (Duthie, 1999; Ames, 2001).

Embora a associação entre compostos dietéticos e a diminuição da incidência de doenças crônicas esteja bastante estudada, a relação entre a ingestão de compostos antioxidantes individuais com biomarcadores de estresse não é conclusiva, como demonstrado em estudos com células, animais e humanos (Hozawa *et al.*, 2008; Briviba *et al.*, 2008; Halliwell, 2012). Isto pode ser atribuído às várias formas e doses de antioxidantes utilizados nos estudos, já que a dieta humana é composta não apenas por um antioxidante, mas por uma combinação de muitos nutrientes (como carotenoides, vitamina C, vitamina E, selênio e polifenóis) (Floegel *et al.*, 2010). Além disso, é



comum avaliar apenas o efeito antioxidante de determinados tipos de alimentos, como frutas e/ou legumes, no entanto, estes alimentos não são fontes exclusivas de antioxidantes dietéticos. Outros alimentos, tais como o café, chocolate, vinho tinto, cereais integrais e nozes também são considerados importantes fontes dietéticas de antioxidantes (Del Rio *et al.*, 2011). Por isso, estimar a ingestão total de antioxidantes é fundamental para avaliar seus efeitos protetores contra o risco de desenvolvimento de doenças crônicas (Floegel *et al.*, 2010).

Para considerar a capacidade antioxidante total de todos os antioxidantes presentes em alimentos ou fluidos corporais, foi desenvolvido o conceito de capacidade antioxidante total (TAC), que leva em consideração a exposição global a antioxidantes, ao invés de antioxidantes individuais, já que os mesmos podem agir aditiva e sinergicamente contra o estresse oxidativo (Serafini & Del Rio, 2004). Estimar a capacidade antioxidante total dietética (DTAC) é um novo conceito epidemiológico que caracteriza a soma de todas as propriedades antioxidantes dos nutrientes (Rautiainen *et al.*, 2013).

A DTAC foi inversamente associada com a incidência de insuficiência cardíaca (Rautiainen *et al.*, 2013), com o risco de desenvolvimento de câncer (Gifkins *et al.*, 2012; Holtan *et al.*, 2012; La Vecchia *et al.*, 2013), com os níveis séricos de proteína C-reativa (Kobayashi *et al.*, 2012), com o risco de desenvolver síndrome metabólica (Hermsdorff *et al.*, 2011) e com infarto cerebral (Del Rio *et al.*, 2011). Estes dados sugerem que a avaliação da DTAC, ao invés de um determinado alimento ou composto antioxidante isolado, é uma estratégia adequada, pois leva em consideração o que é efetivamente consumido pela população.

A alta concentração de antioxidantes no sangue parece aumentar as defesas do organismo contra certas doenças (Winklhofer-Roob *et al.*, 2003) e por isso, a avaliação da TAC de tecidos e fluidos corporais, como plasma, soro, saliva, lágrimas e urina, também tem sido utilizada a fim de investigar os efeitos dos antioxidantes contra o estresse oxidativo e o desenvolvimento de doenças (Bartosz, 2010). Diferentes ensaios são utilizados para avaliar a TAC plasmática (PTAC), tais como a atividade antioxidante através da captura do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS) (Limberaki *et al.*, 2012), capacidade de absorvência do radical oxigênio (ORAC) (Cao *et al.*, 1993) e capacidade plasmática de redução de ferro (FRAP) (Benzie & Strain, 1996). Estudos sugerem que um aumento na PTAC está associado à ingestão de frutas e legumes (Pitsavos *et al.*, 2005; Talegawkar *et al.*, 2009) e que fatores como dieta (Block *et al.*, 1992; Balluz *et al.*, 2000; Millen *et al.*, 2004), sexo, estresse psicológico, atividade física (Kostka *et al.*, 1998; Sen & Packer, 2000; Limberaki *et al.*, 2012) e tabagismo (Marangon *et al.*, 1998) também influenciam na PTAC. Um estudo recente (Wang *et al.*, 2012) correlacionou a DTAC e a PTAC, sugerindo que a DTAC poderia ser utilizada para prever o estado antioxidante plasmático da população, evitando, assim, procedimentos invasivos.

### **2.2.2 Atividade física e estresse psicológico**

A prática de atividade física está associada ao aumento das defesas antioxidantes e conseqüente diminuição dos danos oxidativos (Pinho *et al.*, 2009; Corbi *et al.*, 2012; Golbidi & Laher, 2013). O treinamento físico é, frequentemente, apresentado como um antioxidante eficaz e anti-aterogênico (Leung *et al.*, 2008; Seals *et al.*, 2009; Szostak & Laurant, 2011). O impacto do exercício físico sobre o estresse oxidativo tem sido extensivamente estudado em relação ao risco de desenvolvimento de doenças crônicas,

pois a atividade física aumenta a expressão e a atividade de enzimas antioxidantes, com consequente redução de ER (Corbi *et al.*, 2012; Golbidi & Laher, 2013).

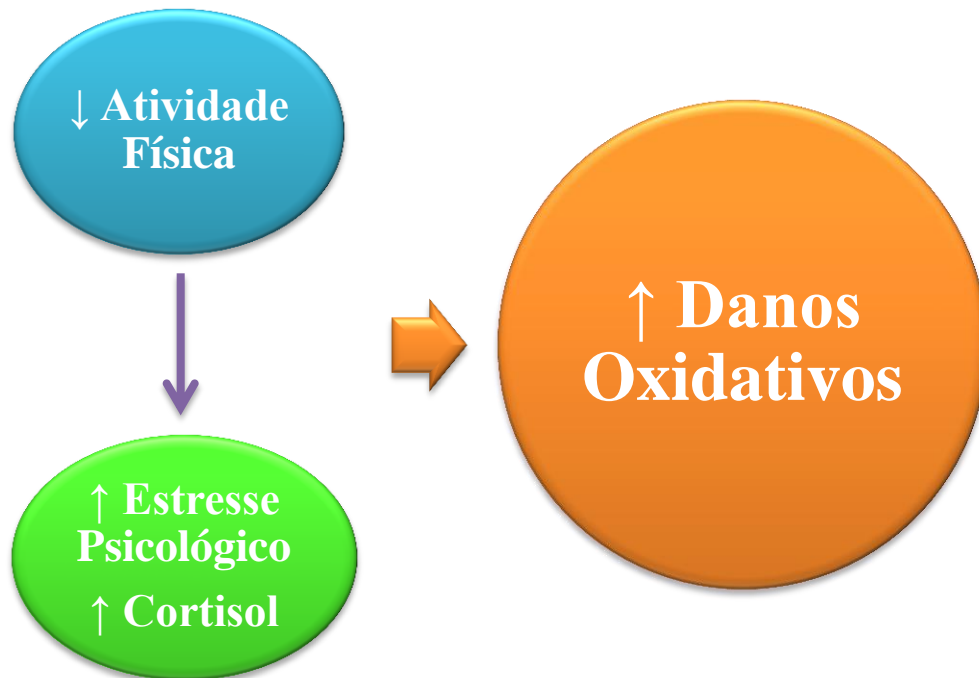
Estudos mostram que o exercício físico frequente altera positivamente a homeostase oxidativa de células e tecidos, diminuindo os níveis basais de danos oxidativos e aumentando a resistência ao estresse oxidativo (Corbi *et al.*, 2012). Na verdade, o exercício provoca adaptações na capacidade antioxidante, protegendo as células contra os efeitos prejudiciais do estresse oxidativo, impedindo assim os danos celulares (Golbidi *et al.*, 2012). Além disso, a atividade física atenua várias doenças que estão relacionadas com o estresse oxidativo, tais como diabetes tipo 2, câncer e doenças cardiovasculares e é inversamente correlacionada com a mortalidade (Calvo *et al.*, 2011; Chapman *et al.*, 2013; Hall *et al.*, 2014). A prática de atividade física também está relacionada com a diminuição do estresse psicológico e dos níveis plasmáticos de cortisol (Field *et al.*, 2013; Childs & de Wit, 2014).

O estresse psicológico, a ansiedade e a depressão podem contribuir para a elevação da formação de ER, induzindo danos oxidativos (Hovatta *et al.*, 2010; Wolkowitz *et al.*, 2010). Uma explicação para o estresse oxidativo elevado durante o estresse psicológico pode ser o efeito de altos níveis circulantes de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) (McIntosh & Sapolsky, 1996; Cosentino *et al.*, 2004). Além disso, em resposta a períodos intensos de estresse, o organismo libera grandes quantidades de cortisol, hormônio conhecido como “hormônio do estresse” (Buckley *et al.*, 2012). O estresse psicológico associado ao hipercortisolismo prolongando é prejudicial para a saúde, pois promove um aumento na produção mitocondrial de ER, causando assim danos a biomoléculas. Além disso, o estresse crônico gera um

desequilíbrio bioquímico, que está associado com o aumento da adiposidade, da inflamação e do estresse oxidativo (Epel, 2009).

O estresse oxidativo é um importante componente para o comportamento da doença emocional, que tem um grande impacto durante as doenças psicológicas. Por exemplo, alguns estudos clínicos têm sugerido que a memória dos acontecimentos de vida que levam à raiva ou à depressão podem aumentar a atividade oxidativa e enfraquecer a função do sistema imunológico no prazo de trinta minutos de relembrar tais eventos (Arranz *et al.*, 2007; Bouayed *et al.*, 2009). Estudos relatam que indivíduos deprimidos e/ou ansiosos apresentam níveis de danos oxidativos aumentados e/ou as defesas antioxidantes diminuídas (Luca *et al.*, 2013; Bewernick & Schlaepfer, 2013; Chunga *et al.*, 2014).

Existem diversas relações entre a prática de atividade física e o estresse psicológico (Dunn *et al.*, 2005; Teychenne *et al.*, 2008). As pessoas deprimidas geralmente praticam menos atividade física do que as pessoas mentalmente saudáveis (Brosse *et al.*, 2002; Craft & Perna, 2006), porém, não praticar ou reduzir a atividade física pode aumentar os níveis de depressão, situação onde ocorre uma liberação maior de cortisol e está associada com o aumento da obesidade (Bjorntorp, 1997; Rosmond *et al.*, 1998) que, por sua vez, também está relacionada com danos oxidativos aumentados (Halliwell, 2013), resultando em um ciclo negativo para a saúde (**Figura 6**). Inversamente, aumentar a prática de atividade física pode aliviar a depressão e a ansiedade (Dunn *et al.*, 2005), o que também pode colaborar para menores índices de danos oxidativos.



**Figura 6.** Relações entre estresse psicológico e atividade física.

Adaptado de Brumby *et al.*, 2011.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Quantificar a capacidade antioxidante total da dieta de mulheres saudáveis e sua relação com a capacidade antioxidante total plasmática, ingestão de nutrientes, marcadores de danos a biomoléculas, prática de atividade física e níveis de ansiedade e depressão.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Quantificar a capacidade antioxidante total da dieta e a ingestão de nutrientes das mulheres amostradas através de um recordatório alimentar específico de 24h;
- Quantificar os danos oxidativos a lipídios (através dos produtos de reação com o ácido tiobarbitúrico), a proteínas (através do teste de proteínas carboniladas) e os danos ao DNA (Ensaio Cometa) nas mulheres amostradas;
- Determinar a capacidade antioxidante total plasmática nas voluntárias do estudo;
- Avaliar o nível de ansiedade e depressão das participantes através da escala HADS - *Hospital Anxiety and Depression Scale*;
- Determinar os níveis plasmáticos de cortisol das mulheres estudadas;
- Correlacionar os marcadores de danos biológicos com a dieta, prática de exercício físico e níveis de ansiedade e depressão em mulheres jovens saudáveis.

#### **4. RESULTADOS**

Os resultados estão apresentados na forma de artigo científico que será submetido à revista *British Journal of Nutrition*.

**Dietary total antioxidant capacity is associated with plasmatic antioxidant capacity, nutrient intake and lipid and DNA damage in healthy women**

Natalia Stedile<sup>1</sup>, Raquel Canuto<sup>2</sup>, Camila Dallavechia de Col<sup>1</sup>, Juliane Sene<sup>1</sup>, Adriana Stolfo<sup>1</sup>, Gabrielle Nunes de Souza Wisintainer<sup>1</sup>, João Antonio Pêgas Henriques<sup>1</sup>, and Mirian Salvador<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul, RS, Brazil

<sup>2</sup>Department of Social Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul, RS, Brazil

\*Corresponding author:

M. Salvador; Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS 95070560, Brazil; e-mail: [msalvado@ucs.br](mailto:msalvado@ucs.br); +55 54 3218 2105.



## **ABSTRACT**

Dietary total antioxidant capacity (DTAC), based on the cumulative effect of the antioxidants found in the diet, has been associated with reducing risk of diseases related to oxidative stress. However, data about the influence of the DTAC on human oxidative stress parameters are scarce. Therefore, the aim of this study was to estimate the DTAC and its influence on plasma total antioxidant capacity (PTAC), and damage to lipids, proteins and DNA in 141 healthy women (18 to 35 years old). Possible confounding factors such as physical activity and psychological stress were also evaluated. Results showed three major nutrient patterns, labeled as Antioxidant, B Complex and Protein/Fat. The DTAC of the studied population showed a positive correlation with PTAC, suggesting that DTAC could be a potentially non-invasive tool for assessing the antioxidant status of a population. Both DTAC and PTAC were positively correlated with the intake of known antioxidants, including vitamin C and polyphenols, suggesting that these compounds play an important role in antioxidant status. The DTAC also exhibited a negative correlation with lipid oxidative damage, while PTAC showed a negative correlation with DNA damage. Cortisol levels were positively associated with DNA damage. Although further studies are needed, this data contributes to better understanding of the recommended dietary antioxidant intake for promoting health.

**Keywords:** dietary total antioxidant capacity, plasma total antioxidant capacity, oxidative stress, antioxidants

## INTRODUCTION

Epidemiological studies show that high consumption of fruits and vegetables has been consistently associated with a low incidence of various chronic diseases, including cancer and cardiovascular diseases<sup>(1-3)</sup>. It is not known for sure which elements of the foods are responsible for this association, but it is assumed that antioxidants may have a protective effect against these diseases<sup>(4)</sup>. Plant foods contain a variety of antioxidants that should be considered together, since one single food or antioxidant does not reflect the total antioxidant capacity of the diet<sup>(5,6)</sup>. To evaluate the cumulative antioxidant activity of foods and drinks, the concept of dietary total antioxidant capacity (DTAC) was created<sup>(7)</sup>. The DTAC considers the accumulative and synergistic effects of dietary antioxidants rather than each individual antioxidant's action and has been used to provide an integrated parameter rather than the simple sum of each antioxidant found in the diet<sup>(8)</sup>.

Previous studies have shown that DTAC is inversely associated with stroke incidence in cardiovascular disease<sup>(9)</sup>, the risk of cancer<sup>(10,11)</sup>, the development of metabolic syndrome<sup>(12)</sup> and the frequency of cerebral infarction<sup>(13)</sup>. Moreover, a recent report<sup>(14)</sup> suggests that DTAC can be used to predict the total antioxidant status of the population, being an important tool to evaluate the relationship between antioxidant intake and the prevalence of diseases associated with oxidative stress.

Besides the diet, oxidative status can be affected by others factors – among these is the level of physical activity, which has been shown to decrease levels of oxidative damage<sup>(15)</sup>, regulating the generation and inactivation of reactive species and increasing the resistance to oxidative stress<sup>(16)</sup>. Physical activity can also influence the level of

psychological stress, which can modify the redox status, mainly through the modulation of cortisol and other stress hormones<sup>(17,18)</sup>. Increased levels of oxidative stress biomarkers have been associated with depression and chronic psychological stress<sup>(19–22)</sup>.

Although many studies have looked at the effects of the antioxidant capacity of individual foods and/or individual antioxidants against diseases, data about the influence of DTAC on oxidative stress parameters are scarce. This study, therefore, was conducted to estimate the DTAC in a population of healthy young women and to determine its influence on plasma total antioxidant activity (PTAC), nutrient intake, oxidative lipid, protein and DNA damage. Possible confounding factors such as physical activity practice and psychological stress were also evaluated.

## **METHODS**

### ***Subjects and sampling***

The study was carried out with 141 women. The sample size was calculated to detect differences between exposed and unexposed groups (physical activity, depression and anxiety, dietary antioxidants) of 0.2 nmol/mL for oxidative lipid damage<sup>(23)</sup>, 0.2 nmol DNPH/mg of protein for oxidative protein damage<sup>(24)</sup> and 0.1 (index damage) for DNA damage<sup>(25)</sup>, using 95% of confidence interval (CI) and a statistical power of 80%. The initial sample size of 98 subjects was increased by around 30% to control for confounding factors in multivariate analysis, giving a total of 141 subjects. Participants were recruited among non-smoking women of between 18 and 35 from Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil. Subjects were excluded if they self-reported any kind of disease or if they took antioxidant supplements and/or daily medications that could

affect their oxidative status. Ten milliliters of blood was collected from each woman's antecubital vein, after 12 hours of fasting, by a qualified technical nurse. The blood was collected in heparin vacutainer tubes (BD Diagnostics, São Paulo, Brazil). One milliliter of total blood was pipetted in Eppendorf tubes for the comet assay. Remaining blood was centrifuged for 15 minutes at 4°C to obtain the plasma, which was immediately pipetted into Eppendorf tubes and stored at -80°C until analysis. All experimental procedures were performed according to the Declaration of Helsinki and approved by the Human Ethics Committee of the University of Caxias do Sul (by number 167.711 - 11/12/12). Participants provided written informed consent before participating in the study.

### *Assessment of questionnaires*

Participants answered three self-administered questionnaires, always supervised by a nutritionist to answer any queries. The first was about sociodemographic characteristics, weight, height and the practice of physical activity, which was defined as any kind of exercise carried out for at least 30 minutes. Subjects were classified into three categories according to the frequency of the time spent with in physical activity (no activities; 1 to 2 times/week and  $\geq 3$  times/week). Body mass index (BMI) was calculated using the reported weight and height<sup>(26)</sup>.

The second questionnaire evaluated levels of anxiety and depression through the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)<sup>(27)</sup>, which contains 14 multiple-choice questions. It consists of two subscales for anxiety and depression, with seven items each. The total score for each subscale ranges from 0 to 21 points. According to the

score, the subjects were arranged into three categories for anxiety and depression: improbable (0 – 7 points), possible (8 – 11 points) and probable (12 – 21 points).

Dietary information was assessed through a 24-hour dietary recall. Subjects were prompted to remember all food items, including snacks and drinks, consumed during the preceding day. Interviews were conducted from Tuesdays to Fridays as weekends were deemed to be atypical for eating habits. The collected data were entered into a database and analyzed using the software Nutrilife (Programme Software Design and Consultoria Ltda, version 8.1, Brazil), which determined the total calories, macro and micronutrients of foods and drinks, based on regional chemical composition tables of food.

#### ***Dietary and plasma total antioxidant capacity***

DTAC was calculated according to the formula below as the sum of the product of antioxidant capacity (ABTS assay) as described by Floegel<sup>(8)</sup> multiplied by the amount consumed of each beverage and/or food per day. Results were expressed as mg equivalents of vitamin C per day (mg VCE/d).

$$DTAC = \sum (\text{antioxidant capacity} \frac{\text{mg VCE}}{100\text{g}} * \text{amount consumed})$$

PTAC was obtained using the antioxidant assay kit (Sigma-Aldrich®, reference: CS0790), which measures the cumulative ability of all antioxidants to reduce free radicals. The results were expressed as mmol Trolox/L.

### ***Oxidative lipid and protein damage and cortisol assays***

Oxidative lipid damage was measured spectrophotometrically by determining thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as described by Wills<sup>(28)</sup>. Results were expressed in nmol/mL. The oxidative damage to proteins was assessed by determining carbonylated proteins (CP) based on the reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) described by Levine<sup>(29)</sup>. Results were expressed as nmol DNPH/mg of proteins. Total protein levels were evaluated using the total proteins kit from Bioclin® (Bioclin, K 031, Brazil) for spectrophotometric determination at 545nm. Morning plasma cortisol levels were assayed through a commercial kit from Roche® (reference: 11875116). The results were expressed as µg/dL.

### ***Comet assay***

The DNA damage was evaluated using the comet assay, which was adapted from the standard protocol of Singh<sup>(30)</sup>. Slides were prepared by dissolving 20µL of whole blood in 80µL of low melting point agarose and spread onto a glass microscope slide that was pre-coated with a layer of 1.5% normal melting point agarose. The slides were then incubated overnight in ice-cold lysis solution (2.5 M NaCl, 10 mM Tris, 100 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1% triton X-100 and 10% dimethylsulfoxide, pH 10.0). Subsequently, the slides were incubated in alkaline buffer (NaOH 300 mM and 1 mM EDTA, pH 12.6) for 10 minutes. Electrophoresis of DNA was 20 minutes at 25 V (0.9 V / cm) at 300 mA in Tris buffer 0.4 M (pH = 7.5). All of the above steps were performed in the dark to prevent additional DNA damage. The slides were then neutralized (0.4 M Tris, pH 7.5), stained with silver nitrate and analyzed using an optic microscope. Two hundred cells from each woman (100 cells

from each of the two slides) were analyzed. Cells were visually scored according to tail length in five classes: class 0: undamaged cells with no tail; class 1: cells with tail shorter than the diameter of the head (nucleus); class 2: cells with tail as long as 1 to 2 times the diameter of the head; class 3: cells with a tail more than twice the diameter of the head, and class 4: comets with no heads. The damage index (DI) is an arbitrary score calculated for each sample, which ranges from 0 (no tail: 100 cells  $\times$  0) to 400 (with maximum migration: 100 cells  $\times$  4). The frequency (%) of the different classes of DNA damage was also evaluated.

### *Statistical analysis*

Analyses were performed using STATA 12.0 software (Stata Corp., College Station, USA) and SPSS for Windows, version 20.0 (SPSS inc., Chicago, IL, USA). Spearman correlation was used to assess the existence of correlation between the outcomes (DTAC and PTAC) and levels of nutrients and energy intake, as well as to assess the correlation between DTAC and PTAC.

The principal components factor analysis was used with nutrient intake to derive major nutrient patterns. Selenium was excluded from analysis due to its low consumption (median = 0). All nutrient intakes were energy adjusted using the residual method. Before identifying dietary patterns, the reliability of the factor analysis procedure was assessed by Kaiser–Meyer–Olkin statistics and the Bartlett test of sphericity. The factors were rotated by an orthogonal (Varimax) transformation. The number of factors retained was based on the following criteria: components with an eigenvalue (1), scree plot test, and the interpretability of the factors. Food items were considered to load on a factor if they had an absolute correlation  $> 0.30$ . The individual

values of the factors were saved for the each dietary pattern as continuous numerical variables.

Simple and multiple linear regressions were conducted to investigate the association between PTAC and DTAC and nutrient patterns. Other sample characteristics (age, educational level, physical activity, anxiety, depression and BMI) were included in analysis as possible confounders. Variables with p-value <0.20 in simple linear regression were entered into the multiple regression. Crude and adjusted  $\beta$  coefficients and 95% CI are presented.

The relationship between DTAC, PTAC, TBARS, cortisol, DNA damage, CP and characteristics of the sample were also investigated. To assess the existence of associations between the outcomes as symmetric numerical variable (cortisol, TBARS, PTAC) and the categorical independent variables, the mean comparison tests ANOVA, T Student and Tukey post-test were used; and for outcomes as asymmetric numerical variables (DNA damage, CP, DTAC) the median comparison tests Mann-Whitney, Kruskal-Wallis and Dunnet post-test were used. Simple and multiple linear regressions were conducted including outcomes with the other sample characteristics. Variables with p<0.20 in simple linear regression were entered into the multivariate model. All tests were two-tailed, and p-values  $\leq 0.05$  were considered significant.

## **RESULTS**

Age, educational level, BMI, physical activity practice and the levels of depression and anxiety of the 141 included in the study are shown in Table 1. Total energy intake and the dietary intake of macronutrients (carbohydrate, protein and fat) of



this population appeared normal according to Dietary Reference Intake (DRI) for women aged 19-30 years<sup>(31)</sup>. However, the median intake of total fiber, calcium, copper, folate, magnesium, selenium, potassium, zinc and the vitamins A, B1, B3, B5, B6, B12, D were lower (Table 2) than that recommended by the same DRI.

The DTAC of the studied population varied from 9.62 to 2226.64 mg VCE/d, while the PTAC showed values from 0.78 to 2.26 mmol Trolox/L. These two variables showed a positive correlation (Figure 1). DTAC was also positively correlated with the intake of folate, vitamin B5, vitamin C and polyphenols and negatively correlated with the levels of cholesterol. Monounsaturated fat content, folate, manganese, potassium, vitamin C and polyphenols levels were positively correlated with PTAC. The intake of sodium was negatively correlated with PTAC (Table 2).

The three drinks that most contributed to raising the DTAC were mate, coffee and tea, responsible for almost 50% of the total DTAC estimated. The other foods/drinks responsible for raising DTAC were orange, orange juice, banana, apple, bean, grape juice and broccoli. The main antioxidants found in these are vitamin C and/or polyphenols (Table 3).

The factor analysis procedure indicated satisfactory reliability (KMO = 0.770) and the Bartlett test of sphericity was statistically significant ( $p < 0.001$ ) for the principal components factor analysis. We identified three major nutrient patterns accounting for 52.63% of total variance. Table 4 illustrates the correlations of the macro and micronutrients intake with each of the three nutrient patterns. The nutrient pattern with the largest eigenvalue was labeled as Antioxidant, this explained 33.88% of the total variance. The high factor loadings for vitamin C and polyphenols, some of the most

popular antioxidants known, led us to label this pattern as Antioxidant. A second pattern, with 11.57% of the total variance, was labeled as B Complex, due to this variation being composed of five B complex vitamins, among other nutrients. The other nutrient pattern we called Protein/Fat, also according to the high factor loadings in nutrients.

Table 5 presents the association of age, educational level, physical activity, levels of anxiety and depression, BMI, total energy intake and nutrient patterns on DTAC and PTAC. After adjustments, DTAC and PTAC were associated only with nutrient patterns. The Antioxidant pattern was positively associated with DTAC and PTAC, and the Protein/Fat pattern with the high factor loading in saturated fat and sodium, as expected, showed a negative association with PTAC.

In this study, the age of the women had no influence on DTAC values. However, it was observed that the women who practised physical activity three times or more a week presented DTAC around 1.5 times higher ( $p < 0,05$ ) than women with no physical activity, suggesting that this group had a more healthy diet. The mean of oxidative lipid damage (TBARS) observed in our sample was  $3.664 \pm 0.713$  nmol/mL, while oxidative protein damage (CP) mean was  $4.150 \pm 1.797$  nmol DNPH/mg of protein. Levels of cortisol were significantly higher between subjects 18-23 years old compared with subjects 24-27 years old. Interestingly, lower levels of cortisol were found in individuals who showed levels of anxiety classified as 'possible' compared to those classified as 'improbable' ( $p < 0,05$ ). DNA damage index mean was  $65.987 \pm 31.473$ . The frequency of the different classes of DNA damage found in our sample was: 51.78% of class 0; 32.78% of class 1; 10.12% of class 2; 2.99% of class 3, and 1.40% of class 4. There were no observable differences in the medians or means of TBARS, CP

and the DNA damage index related to the classification made for age, physical activity practice, BMI and levels of anxiety and depression of the studied women (Table 6). Oxidative lipid damage values were negatively associated with DTAC, and the DNA damage index was negatively associated with PTAC and positively associated with cortisol levels. A negative association between age and the DNA damage index was found, but after controlling for possible confounding factors, in multiple linear regression, this association lost significance (Table 7).

## **DISCUSSION**

It is already known that the intake of fruits and vegetables has been associated with a lower risk of developing chronic diseases, possible because of the presence of antioxidant compounds in these foods<sup>(4)</sup>. However, some of the clinical studies using single antioxidant supplementation have revealed either minimal benefits or no benefits to health<sup>(32-34)</sup>. Indeed, many mechanistic data suggest that antioxidants act cooperatively and synergistically<sup>(5,6)</sup> to prevent oxidative damage and related diseases. Therefore, the concept of DTAC could be very useful in assessing the combined effect of a matrix of multiple antioxidants which may be associated with health effects<sup>(8)</sup>.

DTAC has already been measured in Spanish adults<sup>(12,35)</sup>, North American youths and adults<sup>(4,14,36,37)</sup>, Japanese women<sup>(38)</sup> and in Iranian adults<sup>(39)</sup>. However, to our knowledge, there are no studies about the relationship between DTAC and lipid, protein and DNA damage in healthy people. Therefore, in the present study, we evaluated the DTAC of 141 healthy young women from Brazil to determine its relationship with PTAC, nutrient intake, oxidative damage to lipids and proteins and DNA damage.

Possible confounding factors such as physical activity practice and psychological stress were also evaluated.

The mean DTAC found in the studied Brazilian women was 772.081 mg VCE/d, which was around 53% higher in relation to the DTAC of the North American adults who used dietary supplements<sup>(4)</sup>, and around 55% higher than the DTAC found in young North American people using dietary supplements<sup>(37)</sup>. These results could be due, at least in part, to the regular consumption of fruits and vegetables in the Brazilian diet. However, it should be pointed out that our study evaluated only the DTAC in women, who tend to be more concerned about eating healthy foods.

In our study, the median DTAC was negatively correlated to the intake of cholesterol, because cholesterol is found in foods with low levels of antioxidants compounds. On the other hand, DTAC was positively correlated with folate and vitamins B5 and C. The association between DTAC, folate and vitamin C has already been shown by Puchau et al.<sup>(35)</sup> in young people. The association between DTAC and vitamin B5 is not common in literature. This may be accidental or it may have happened because some food sources of this vitamin, such as broccoli, tomato and potato, are also rich in antioxidants.

The top 10 drinks and foods that most contributed to raising DTAC were mate (*Ilex paraguarienses*), coffee, tea, orange, orange juice, banana, apple, bean, grape juice and broccoli. All these present vitamin C and/or polyphenols, suggesting that these compounds are very important to DTAC. The main beverage responsible for raising DTAC was mate, a traditional drink widely consumed in southern Brazil. Mate presents higher levels of polyphenols than other antioxidant beverages such as wine, coffee and

green tea. The antioxidant activity of mate has, in fact, already been reported by our team and by other groups<sup>(40-42)</sup>.

The mean PTAC of the studied Brazilian population was 1.381 mmol Trolox/L  $\pm$  (0.238), which was around 22% higher than the PTAC found for young Spanish adults<sup>(35)</sup>. Plasmatic total antioxidant capacity showed a strong positive correlation with the DTAC, as previously reported by Wang *et al.*<sup>(14)</sup>, suggesting that the DTAC estimation using a 24-hour dietary recall proved to be a good tool for estimating antioxidant status in vivo without invasive procedures.

Both DTAC and PTAC showed a positive correlation with polyphenols (median intake of 709.30 mg GAE) and vitamin C (median intake of 111.85 mg), as already shown<sup>(4,35,37)</sup>. The top 10 drinks and foods that most contributed to raising DTAC presented vitamin C and/or polyphenols. Vitamin C and polyphenols can prevent oxidative damage to cells and protect against many types of chronic diseases<sup>(43-45)</sup>. The nutrient pattern labeled as Antioxidant, which is characterized by the presence of polyphenol and vitamin C among other nutrients, was strongly correlated with PTAC and DTAC.

Consumption of fruits and vegetables represents one important factor in minimizing oxidative damage. The increased production of reactive oxygen species results in the oxidation of proteins, lipids and nucleic acids<sup>(46)</sup>. Lipid oxidative damage was inversely related to DTAC, showing that the consumption of antioxidants can decrease lipid peroxidation. Although the relationship between antioxidant intake and decreased levels of TBARS has already been described in the literature<sup>(47)</sup>, this is the first study to show the relationship between DTAC and lipid oxidative damage.

Oxidative damage to lipids and its end-products showed mutagenic and carcinogenic effects, being associated with increased development of degenerative diseases<sup>(48)</sup>.

Comet assay, which is widely used in many nutritional studies because it can provide useful information about the molecular effects of diet<sup>(49)</sup>, was used to evaluate DNA damage. Our results showed that women with higher levels of PTAC presented lower DNA damage. Studies conducted with antioxidant foods and/or supplements have also shown an inverse relationship to DNA damage<sup>(50-52)</sup>, suggesting that the intake of antioxidant foods or compounds may be related to genomic stability. Our results also showed that DNA damage was associated with increased cortisol levels. This stress hormone is essential for brain viability. However, high levels of cortisol can induce oxidative stress<sup>(53)</sup>. It has already been shown that high levels of excretion of urinary cortisol increases DNA and RNA oxidation markers in people of 65 and above<sup>(54)</sup>.

To the best of our knowledge, this study shows, for the first time, the relationship between DTAC, oxidative damage to proteins and lipids and DNA damage in a population of healthy women. Taking into account the correlation found between DTAC and PTAC, our data suggest that both DTAC and PTAC may be considered as potential markers of diet quality, which may have an influence on the development of chronic diseases. Importantly, evaluating antioxidants as a whole group (through DTAC and PTAC) could be a better approach in nutritional studies. However, our study does have some limitations. We studied only women aged between 18 and 35 years old and these results should be validated in men and in older populations. Although the 24-hour dietary recall is widely used as a valid method of evaluating nutrient intake<sup>(55,56)</sup> and estimating DTAC<sup>(4)</sup>, a more complete food questionnaire could give a better understanding of the food habits of the studied population.

## **Acknowledgements**

The authors would like to thank all those who volunteered to take part in the study.

## **Financial support**

This study was funded by grants from PRONEX/CNPq and the University of Caxias do Sul. Mirian Salvador is the recipient of a CNPq Research Fellowship and Natalia Stedile is the recipient of a CAPES Research Fellowship.

## **Authorship**

M.S. and N.S. designed the study. N.S., C.D.C., J.S., A.S. and G.N.S.W. performed the biochemical assays. R.C. performed the statistical analyses. M.S., N.S., R.C., J.A.P.H. analyzed and interpreted the results and wrote the article.

## **Conflict of Interest**

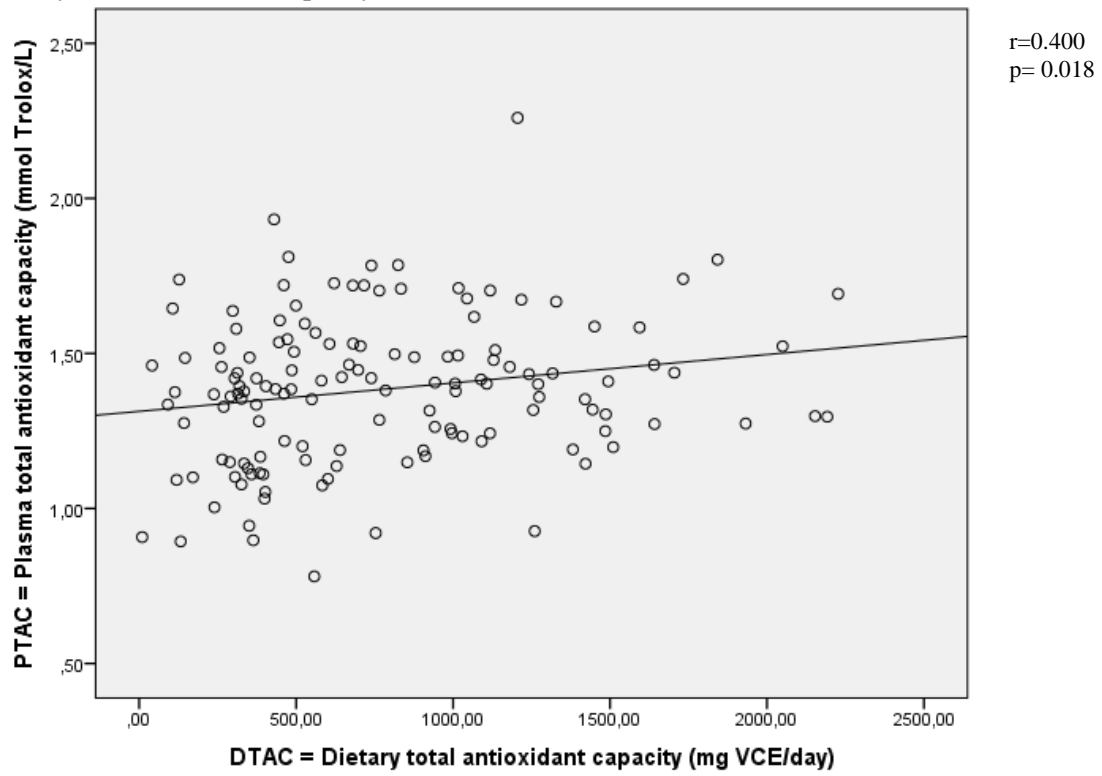
The authors declare there is no conflict of interest regarding the manuscript submitted.

**Table 1.** Socio-demographic, nutritional status and behavioral characteristics of the studied women (n=141).

Variables	Frequencies	%
Age		
18 - 23 years old	51	36.2
24 - 27 years old	44	31.2
28 - 35 years old	46	32.6
Educational level		
Secondary education complete	16	11.4
College/university incomplete	55	39.0
College/university complete	45	31.9
Postgraduate course complete	25	17.7
Body Mass Index		
<18.50 kg/m <sup>2</sup> (underweight)	10	7.1
18.50 - 24.99 kg/m <sup>2</sup> (normal range)	107	75.9
25.00 - 29.99 kg/m <sup>2</sup> (overweight)	18	12.9
≥30.00 kg/m <sup>2</sup> (obese)	6	4.3
Physical activity		
No	60	42.5
1 to 2 times/weeks	30	21.3
≥ 3 times/weeks	51	36.2
Depression		
Improbable	126	89.4
Possible	15	10.6
Anxiety		
Improbable	83	58.9
Possible	47	33.3
Probable	11	7.8



**Figure 1.** Spearman correlation between plasmatic total antioxidant capacity (PTAC) and dietary total antioxidant capacity (DTAC) (n=141).



**Table 2.** Levels of nutrient intake and their correlations with dietary total antioxidant capacity (DTAC) and plasmatic total antioxidant capacity (PTAC). (n=141)

Nutrient	DTAC		PTAC		
	Median (IQR)	r $\Upsilon$	p	r $\Upsilon$	p
<b>Total energy intake (TEI) in kJ</b>	7777.46 (3348.12)	0.950	0.265	-0.028	0.742
<b>Macronutrients</b>					
Carbohydrate (% TEI)	51.13 (11.87)	0.870	0.304	0.024	0.783
Total fiber (g)	18.47 (13.85)	0.078	0.361	0.128	0.132
Protein (% TEI)	15.31 (6.02)	0.084	0.323	-0.138	0.103
Fat (% TEI)	33.91 (11.22)	-0.020	0.814	-0.050	0.558
Cholesterol (mg)	192.33 (216.51)	-0.181	0.032*	-0.113	0.185
Monounsaturated fat (% TEI)	7.19 (4.74)	0.060	0.482	0.218	0.010**
Polyunsaturated fat (% TEI)	5.17 (4.31)	0.073	0.394	-0.155	0.068
Saturated fat (% TEI)	9.78 (4.77)	-0.040	0.636	-0.154	0.069
<b>Micronutrients</b>					
Calcium (mg)	555.01 (405.44)	-0.043	0.616	0.016	0.848
Copper ( $\mu$ g)	1.21 (1.00)	0.101	0.233	0.150	0.078
Folate ( $\mu$ g)	217.72 (270.05)	0.211	0.012*	0.181	0.032*
Iodine ( $\mu$ g)	97.54 (165.09)	-0.068	0.424	-0.001	0.986
Iron (mg)	10.85 (6.05)	0.081	0.343	0.046	0.591
Magnesium (mg)	215.29 (163.95)	0.124	0.146	0.113	0.187
Manganese (mg)	2.47 (2.94)	0.147	0.084	0.211	0.012*
Phosphorus (mg)	888.75 (536.07)	-0.016	0.852	0.029	0.737
Potassium (mg)	2230.78 (1276.88)	0.206	0.206	0.180	0.034*
Selenium ( $\mu$ g)	0 (0.41)	0.036	0.671	0.024	0.776
Sodium (mg)	1638.93 (1412.21)	-0.099	0.246	-0.216	0.010**
Vitamin A ( $\mu$ g)	566.13 (969.08)	0.034	0.690	-0.109	0.199
Vitamin B1 (mg)	0.87 (0.60)	0.063	0.462	0.075	0.378
Vitamin B2 (mg)	1.23 (0.79)	0.073	0.393	-0.016	0.853
Vitamin B3 (mg)	13.57 (13.95)	0.020	0.818	0.041	0.633
Vitamin B5 (mg)	3.39 (2.67)	0.166	0.050*	0.081	0.340
Vitamin B6 (mg)	0.95 (1.00)	0.160	0.060	0.015	0.863
Vitamin B12 (mg)	2.20 (2.56)	-0.078	0.357	-0.114	0.180
Vitamin C (mg)	111.85 (184.09)	0.259	0.002**	0.222	0.008**
Vitamin D ( $\mu$ g)	2.40 (6.29)	-0.026	0.763	0.105	0.216
Vitamin E (mg)	15.91 (11.51)	0.062	0.466	-0.099	0.246
Zinc (mg)	7.53 (7.18)	-0.028	0.741	0.015	0.862
<b>Polyphenols (mg GAE)</b>	709.30 (636.85)	0.800	0.000**	0.206	0.014*

IQR: interquartile range ; TEI, total energy intake; kJ, kilojoules; GAE; Gallic acid equivalent.  $\Upsilon$  Spearman correlation; \*p<0,05; \*\*p<0,01.

**Table 3.** Vitamin C and total polyphenol content of the 10 foods and drinks that most contributed to raising the dietary total antioxidant capacity (DTAC) of the volunteers.

Ranking	Food/Drink	Percentage of Contribution <sup>a</sup>	Vitamin C (mg/100g) <sup>b</sup>	Polyphenols (mg GAE/100g) <sup>c</sup>
1	Mate ( <i>Ilex paraguariensis</i> )	25.35	0.00	380.30
2	Coffee ( <i>Coffea arabica</i> L.)	12.49	0.00	50.60
3	Tea ( <i>Camellia sinensis</i> )	9.78	0.00	127.10
4	Orange ( <i>Citrus aurantium</i> L.)	7.87	34.70	143.10
5	Orange juice ( <i>Citrus sinensis</i> )	5.42	73.30	73.30
6	Banana ( <i>Musa</i> sp)	4.86	21.60	96.50
7	Apple ( <i>Malus domestica</i> )	4.36	2.40	127.10
8	Bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	4.15	0.00	50.70
9	Grape juice ( <i>Vitis labrusca</i> L.)	4.04	21.00	106.80
10	Broccoli ( <i>Brassica oleracea</i> )	2.27	34.30	151.90

GAE, Gallic acid equivalent.

<sup>a</sup> The percentage of contribution of each food and beverage to the TAC was based on the sum of all TAC of the volunteers.

<sup>b</sup> Values of vitamin C were listed in the Brazilian Food Composition Table (Unicamp, 2011).

<sup>c</sup> Values of polyphenols were listed by Floegel *et al.*<sup>(8)</sup>., except for mate, which was performed by our group as described by the authors.

**Table 4.** Factorial analysis solutions after orthogonal varimax rotation to three factors for the sample of adult women.

Pattern	Nutrient	Factor load	% Variance explained
Antioxidant	Fiber	0.802	<b>33.88</b>
	Vitamin B1	0.744	
	Folate	0.771	
	Potassium	0.770	
	Vitamin C	0.685	
	Copper	0.650	
	Magnesium	0.604	
	Carbohydrate	0.603	
	Iron	0.601	
	Polyphenol	0.585	
	Manganese	0.554	
	Selenium	0.371	
	Vitamin A	0.352	
B Complex	Zinc	0.876	<b>11.57</b>
	Vitamin B12	0.859	
	Vitamin B5	0.713	
	Phosphorus	0.669	
	Fat	0.617	
	Cholesterol	0.584	
	Vitamin B6	0.541	
	Vitamin B3	0.466	
	Vitamin B2	0.459	
	Iodine	0.418	
Protein/Fat	Protein	0.883	<b>7.17</b>
	Saturated fat	0.785	
	Sodium	0.651	
	Monounsaturated fat	0.621	
	Polyunsaturated fat	0.444	
	Vitamin E	0.413	
	Calcium	0.322	
<b>Total variance explained: 52.63%</b>			

**Table 5.** Analysis of simple and multiple linear regression of age, educational level, body mass index and nutrient patterns on dietary total antioxidant capacity (DTAC) and plasmatic total antioxidant capacity (PTAC).

Variables	DTAC				PTAC			
	$\beta$ coefficient (CI <sub>95%</sub> )	p	$\beta$ coefficient*(CI <sub>95%</sub> )	p	$\beta$ coefficient (CI <sub>95%</sub> )	p	$\beta$ coefficient* (CI <sub>95%</sub> )	p
Age	13.89(-5.25;33.04)	0.154	10.06(-10.62;30.73)	0.338	-0.01(-0.00;0.01)	0.376	-	
Educational level	92.84(-27.60;244.91)	0.117	48.49(-20.96;117.95)	0.170	0.09(0.03;0.15)	0.005	0.06(0.01;0.12)	0.051
Physical activity	102.42(7.51;197.33)	0.035	34.28(-63.60;132.13)	0.490	0.01(-0.04; 0.05)	0.800	-	
Depression	-14.05(-47.39;19.30)	0.406	-		-0.01(-0.03;0.01)	0.056	-	
Anxiety	-4.68(-30.42;21.07)	0.720	-		-0.04(-0.01;0.07)	0.447	-	
Body Mass Index	17.93(-5.98;41.86)	0.140	16.66(-7.37;40.70)	0.173	0.01(-0.01;0.02)	0.619	-	
Total Energy Intake	0.06(-0.09;0.21)	0.429	-		0.01 (-0.01;0.1)	0.813	-	
Antioxidant Pattern	122.22 (41.42;207.02)	0.004	122.97(37.41;208.529)	0.005	0.07(0.03;0.11)	0.001	0.06(0.02;0.10)	0.002
B Complex Pattern	-8.572(-93.99;76.85)	0.843	-		0.01(-0.04;0.04)	0.986	-	
Protein/Fat Pattern	-21.42(-106.78;63.94)	0.620	-		-0.05(-0.08;-0.01)	0.019	-0.04(-0.83;-0.01)	0.022

\* adjusted for variables with  $p < .20$  in simple linear regression; CI: confidential interval.

**Table 6.** Medians and means scores of the dietary total antioxidant capacity (DTAC), plasmatic total antioxidant capacity (PTAC), oxidative damage to lipids (TBARS), carbonylated protein (CP), plasmatic cortisol and DNA damage index, according to age, physical activity practice, body mass index (BMI) and levels of anxiety and depression.

	DTAC* (mg VCE/d)		PTAC** (mmol Trolox/L)		TBARS** (nmol/mL)		CP* (nmol DNP/mg of PTN)		Cortisol** (µg/dL)		DNA damage index*	
	Median (IQR)	Mean (SD)	Median (IQR)	Mean (SD)	Median (IQR)	Mean (SD)	Median (IQR)	Mean (SD)	Median (IQR)	Mean (SD)	Median (IQR)	Mean (SD)
<b>Total</b>	642.480 (737.080)	772.081 (505.150)	1.384 (0.315)	1.381 (0.238)	3.686 (1.035)	3.664 (0.713)	3.760 (1.710)	4.150 (1.797)	31.800 (19.200)	31.413 (12.247)	59.100 (38.125)	65.987 (31.473)
<b>Age (tertiles)</b>												
18 – 23 years	610.980 (585.094)	729.215 (486.265)	1.409 (0.264)	1.420 (0.232)	3.841 (1.239)	3.853 (0.812)	3.709 (1.672)	3.985 (1.697)	36.370 (14.790)	<sup>a</sup> <b>34.916</b> (11.760)	64.750 (35.500)	72.470 (36.326)
24 – 27 years	600.567 (730.555)	744.873 (521.831)	1.343 (0.349)	1.341 (0.236)	3.486 (1.005)	3.498 (0.636)	3.545 (2.253)	4.406 (2.201)	33.125 (19.867)	<b>31.347</b> (11.515)	59.500 (34.500)	66.702 (28.976)
28 – 35 years	734.974 (897.014)	844.699 (512.230)	1.363 (0.334)	1.376 (0.244)	3.704 (0.960)	3.612 (0.626)	3.880 (1.571)	4.087 (1.455)	26.785 (18.248)	<b>27.591</b> (12.547)	54.000 (29.500)	58.100 (26.482)
<b>Physical activity</b>												
No	<b>525.196<sup>b</sup></b> (682.351)	694.531 (507.081)	1.402 (0.334)	1.389 (0.233)	3.542 (0.977)	3.687 (0.745)	3.801 (1.597)	4.232 (1.578)	33.510 (18.740)	35.504 (12.597)	60.000 (31.500)	67.740 (30.591)
1 to 2 times/weeks	<b>533.643 (744.071)</b>	729.573 (514.499)	1.360 (0.342)	1.330 (0.233)	3.726 (1.244)	3.692 (0.755)	3.540 (1.372)	4.229 (2.499)	27.255 (20.460)	29.510 (12.953)	63.000 (46.000)	72.383 (32.777)
≥ 3 times/weeks	<b>824.636 (738.004)</b>	902.401 (482.307)	1.402 (0.293)	1.403 (0.249)	3.726 (1.004)	3.695 (0.652)	3.733 (2.077)	4.026 (1.547)	32.870 (18.947)	31.403 (11.543)	51.000 (28.000)	58.062 (28.665)
<b>Body Mass Index</b>												
<18.50 kg/m <sup>2</sup> (underweight)	579.531 (706.995)	629.454 (378.713)	1.365 (0.287)	1.349 (0.182)	3.628 (0.922)	3.587 (0.657)	3.647 (2.600)	4.220 (1.234)	23.610 (14.682)	26.680 (11.421)	58.250 (26.875)	63.250 (33.951)
18.50 - 24.99 kg/m <sup>2</sup> (normal range)	662.876 (705.89)	776.443 (488.654)	1.394 (0.338)	1.382 (0.248)	3.705 (3.538)	3.672 (0.713)	3.882 (1.617)	4.223 (1.812)	34.490 (17.150)	32.428 (11.939)	58.000 (41.500)	66.704 (33.159)
25.00 - 29.99 kg/m <sup>2</sup> (overweight)	558.317 (982.630)	775.881 (580.851)	1.420 (0.193)	1.390 (0.193)	3.603 (1.417)	3.725 (0.796)	3.603 (1.417)	0.379 (2.147)	35.145 (19.662)	31.741 (14.149)	66.000 (36.625)	66.233 (23.050)
≥30.00 kg/m <sup>2</sup> (obese)	869.267 (1159.713)	921.332 (778.662)	1.395 (0.542)	1.393 (0.305)	3.347 (1.393)	3.452 (0.667)	3.382 (2.082)	3.784 (1.295)	18.550 (12.255)	20.213 (6.659)	55.500 (31.500)	55.550 (17.808)
<b>Anxiety</b>												
Improbable	689.510 (703.299)	772.506 (498.496)	1.409 (0.379)	1.396 (0.262)	3.773 (0.886)	3.677 (0.714)	3.677 (0.886)	4.247 (2.025)	34.660 (16.960)	<sup>c</sup> <b>33.332</b> (11.665)	60.250 (41.625)	66.468 (32.286)
Possible	620.910 (744.554)	736.798 (505.094)	1.370 (0.275)	1.347 (0.202)	3.471 (0.859)	3.570 (0.647)	3.709 (1.656)	3.949 (1.480)	26.250 (23.120)	<b>27.502</b> (13.312)	57.500 (35.000)	64.834 (32.195)
Probable	925.140 (1128.673)	919.662 (575.115)	1.384 (0.264)	1.419 (0.177)	3.855 (1.894)	3.967 (0.934)	4.298 (1.987)	4.277 (1.109)	34.730 (16.950)	<b>33.639</b> (7.800)	58.000 (26.500)	67.409 (23.610)
<b>Depression</b>												
Improbable	668.778 (725.731)	776.131 (490.017)	1.382 (0.325)	1.383 (2.242)	3.687 (0.971)	3.673 (0.707)	3.638 (1.724)	4.138 (1.867)	31.915 (19.135)	31.590 (12.269)	59.000 (38.500)	66.113 (32.060)
Possible	472.160 (1015.647)	738.328 (636.728)	1.401 (0.299)	1.365 (0.207)	3.326 (1.226)	3.587 (0.784)	4.023 (1.553)	4.251 (1.069)	30.430 (24.560)	29.925 (12.373)	59.200 (39.000)	64.946 (27.110)

VCE, vitamin C equivalent; DNP, dinitrophenylhydrazine; PTN, protein; IQR, interquartile range; SD, standard deviation; \* p-value by Kruskal Wallis Test (Dunnet pots-test); \*\*p-value by ANOVA (Tukey post-test).; bold values represent p ≤0,05; <sup>a</sup> statistically significant difference between 18-23 year-olds compared with 28-35 year-olds; <sup>b</sup> statistically significant difference between no physical activity and physical activity ≥ 3 times/week; <sup>c</sup> statistically significant difference between anxiety improbable and possible.

**Table 7.** Analysis of simple and multiple linear regression of age, physical activity practice, levels of anxiety and depression, body mass index, dietary total antioxidant capacity (DTAC), plasmatic total antioxidant capacity (PTAC) and levels of plasmatic cortisol on oxidative damage to lipids by measuring levels of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and DNA damage index.

Variables	TBARS				DNA damage index			
	$\beta$ coefficient (CI <sub>95%</sub> )	p	$\beta$ coefficient*(CI <sub>95%</sub> )	p	$\beta$ coefficient (CI <sub>95%</sub> )	p	$\beta$ coefficient* (CI <sub>95%</sub> )	p
DTAC	-0.003(-0.005; - 0.001)	0.004	-0.001(-0.001;-0.010)	0.009	0.001(-0.108;0.0114)	0.951	-	
PTAC	-0.212(- 0.712; 0.289)	0.404	-		-20.753(-44.2001;2.695)	0.082	-25.445(-47.365;-3.520)	0.023
Age	-0.023(-0.050; 0.003)	0.087	-0.016(-0.043;0.012)	0.262	-1.427(-2.603;-0.251)	0.018	-0.837(-1.999;0.322)	0.156
Physical activity	0.044(-0.090;0.178)	0.519	-		-4.624(-10.492;1.245)	0.122	-3.838(-9.453;1.776)	0.179
Depression	-0.010(-0.057;0.036)	0.666	-		-0.383(-1.991;1.225)	0.638	-	
Anxiety	-0.003(-0.039;0.033)	0.873	-		-0.235(-2.333;1.863)	0.825	-	
Body Mass Index	-0.012(-0.04; 0.021)	0.464	-		-0.802(-2.241;0.737)	0.304	-	
Cortisol	0.007(-0.003;0.016)	0.154	0.004(-0.005;0.014)	0.386	0.645(0.228;1.062)	0.003	0.630(0.217;1.041)	0.003

\* adjusted for variables with p<.20 in simple linear regression; CI: confidential interval.

## REFERENCES

1. Eilat-Adar S, Sinai T, Yosefy C *et al.* (2013) Nutritional recommendations for cardiovascular disease prevention. *Nutrients* **5**, 3646–3683.
2. Slavin J & Lloyd B. (2012) Health benefits of fruits and vegetables. *Adv Nutr* **3**, 506–516.
3. Liu RH. (2013) Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Adv Nutr* **4**, 384S–392S.
4. Yang M, Chung S-J, Chung CE *et al.* (2011) Estimation of total antioxidant capacity from diet and supplements in US adults. *Br J Nutr* **106**, 254–263.
5. Saura-Calixto F, Serrano J, Goñi I. (2007) Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem* **101**, 492–501.
6. Puchau B, Zulet MA, de Echávarri AG *et al.* (2009) Dietary total antioxidant capacity: a novel indicator of diet quality in healthy young adults. *J Am Coll Nutr* **28**, 648–656.
7. Serafini M & Del Rio D. (2004) Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Rep Commun Free Radic Res* **9**, 145–152.
8. Floegel A, Kim DO, Chung SJ *et al.* (2010) Development and validation of an algorithm to establish a total antioxidant capacity database of the US diet. *Int J Food Sci Nutr* **61**, 600–623.
9. Rautiainen S, Levitan EB, Mittleman MA *et al.* (2013) Total antioxidant capacity of diet and risk of heart failure: a population-based prospective cohort of women. *Am J Med* **126**, 494–500.
10. Gifkins D, Olson SH, Paddock L *et al.* (2012) Total and individual antioxidant intake and risk of epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer* **12**, 211.
11. La Vecchia C, Decarli A, Serafini M *et al.* (2013) Dietary total antioxidant capacity and colorectal cancer: a large case-control study in Italy. *Int J Cancer* **133**, 1447–1451.
12. Hermsdorff HHM, Puchau B, Volp ACP *et al.* (2011) Dietary total antioxidant capacity is inversely related to central adiposity as well as to metabolic and oxidative stress markers in healthy young adults. *Nutr Metab* **8**, 59.



13. Del Rio D, Agnoli C, Pellegrini N *et al.* (2011) Total antioxidant capacity of the diet is associated with lower risk of ischemic stroke in a large Italian cohort. *J Nutr* **141**, 118–123.
14. Wang Y, Yang M, Lee SG *et al.* (2012) Plasma total antioxidant capacity is associated with dietary intake and plasma level of antioxidants in postmenopausal women. *J Nutr Biochem* **23**, 1725–1731.
15. Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR. (2012) Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxid Med Cell Longev* **2012**, 756132.
16. Corbi G, Conti V, Russomanno G *et al.* (2012) Is physical activity able to modify oxidative damage in cardiovascular aging? *Oxid Med Cell Longev* **2012**, 728547.
17. Childs E & de Wit H. (2014) Regular exercise is associated with emotional resilience to acute stress in healthy adults. *Front Physiol* **5**, 161.
18. Field T, Diego M, Delgado J *et al.* (2013) Yoga and social support reduce prenatal depression, anxiety and cortisol. *J Bodyw Mov Ther* **17**, 397–403.
19. Luca M, Luca A, Calandra C. (2013) Accelerated aging in major depression: the role of nitro-oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* **2013**, 230797.
20. Bewernick B & Schlaepfer T. (2013) Chronic depression as a model disease for cerebral aging. *Dialogues Clin Neurosci* **15**, 77–85.
21. Chunga C, Schmidtc D, Steina M *et al.* (2014) Increased oxidative stress in patients with depression and its relationship to treatment. *Psychiatry Res* **206**, 213–216.
22. Hovatta I, Juhila J, Donner J. (2010) Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders. *Neurosci Res* **68**, 261–275.
23. Chen Y-L, Chen L-J, Bair M-J *et al.* (2011) Antioxidative status of patients with alcoholic liver disease in southeastern Taiwan. *World J Gastroenterol* **17**, 1063–1070.
24. Rasheed Z & Ali R. (2006) Reactive oxygen species damaged human serum albumin in patients with type 1 diabetes mellitus: biochemical and immunological studies. *Life Sci* **79**, 2320–2328.

25. Kašuba V, Rozgaj R, Milić M *et al.* (2012) Evaluation of genotoxic effects of lead in pottery-glaze workers using micronucleus assay, alkaline comet assay and DNA diffusion assay. *Int Arch Occup Environ Health* **85**, 807–818.
26. World Health Organization (1995) *Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee*. Geneva: WHO.
27. Zigmond A & Snaith R. (1983) The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* **67**, 361–370.
28. Wills E. (1966) Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem J* **99**, 667–676.
29. Levine R, Garland D, Oliver C *et al.* (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* **186**, 464–478.
30. Singh N, McCoy M, Tice R *et al.* (1988) A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* **175**, 184–191.
31. National Research Council (2000) *Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements*. Washington DC: National Academies Press.
32. Lonn E, Bosch J, Yusuf S, Sheridan P *et al.* (2005) Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events. *Jama J Am Med Assoc* **293**, 1338–1347.
33. Eidelman RS, Hollar D, Hebert PR *et al.* (2004) Randomized trials of vitamin E in the treatment and prevention of cardiovascular disease. *Arch Intern Med* **164**, 1552–1556.
34. Markovits N, Ben Amotz A, Levy Y. (2009) The effect of tomato-derived lycopene on low carotenoids and enhanced systemic inflammation and oxidation in severe obesity. *Isr Med Assoc J* **11**, 598–601.
35. Puchau B, Zulet MA, de Echávarri AG *et al.* (2010) Dietary total antioxidant capacity is negatively associated with some metabolic syndrome features in healthy young adults. *Nutrition* **26**, 534–541.
36. Yang M, Chung S, Floegel A *et al.* (2012) Dietary antioxidant capacity is associated with improved serum antioxidant status and decreased serum C-reactive protein and plasma homocysteine concentrations. *Eur J Nutr* **52**, 1901–1911.

37. Wang Y, Yang M, Lee S *et al.* (2012) Dietary total antioxidant capacity is associated with diet and plasma antioxidant status in healthy young adults. *J Acad Nutr Diet* **112**, 1626–1635.
38. Kobayashi S, Murakami K, Sasaki S *et al.* (2012) Dietary total antioxidant capacity from different assays in relation to serum C-reactive protein among young Japanese women. *Nutr J* **11**, 91.
39. Bahadoran Z, Golzarand M, Mirmiran P *et al.* (2012) Dietary total antioxidant capacity and the occurrence of metabolic syndrome and its components after a 3-year follow-up in adults: Tehran Lipid and Glucose Study. *Nutr Metab* **9**, 70.
40. Branco S, Scola G, Rodrigues AD *et al.* (2013) Anticonvulsant, neuroprotective and behavioral effects of organic and conventional yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) on pentylenetetrazol-induced seizures in Wistar rats. *Brain Res Bull* **92**, 60–68.
41. Bracesco N, Sanchez a G, Contreras V *et al.* (2011) Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *J Ethnopharmacol* **136**, 378–384.
42. Heck C & de Mejia E. (2007) Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J Food Sci* **72**, R138–151.
43. Chambial S, Dwivedi S, Shukla K *et al.* (2013) Vitamin C in disease prevention and cure: an overview. *Indian J Clin Biochem* **28**, 314–328.
44. Khurana S, Venkataraman K, Hollingsworth A *et al.* (2013) Polyphenols: benefits to the cardiovascular system in health and in aging. *Nutrients* **5**, 3779–3827.
45. Wang Y, Chun OK, Song WO. (2013) Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: a review of human studies. *Nutrients* **5**, 2969–3004.
46. Aseervatham GSB, Sivasudha T, Jeyadevi R *et al.* (2013) Environmental factors and unhealthy lifestyle influence oxidative stress in humans -- an overview. *Environ Sci Pollut Res Int* **20**, 4356–4369.
47. Jacob K, Periago M, Böhm V *et al.* (2008) Influence of lycopene and vitamin C from tomato juice on biomarkers of oxidative stress and inflammation. *Br J Nutr* **99**, 137–146.

48. Jacob K, Hooten N, Trzeciak A *et al.* (2013) Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease. *Mech Ageing Dev* **134**, 139–157.
49. Wasson GR, McKelvey-Martin VJ, Downes CS. (2008) The use of the comet assay in the study of human nutrition and cancer. *Mutagenesis* **23**, 153–162.
50. Shahar S, Shafurah S, Hasan Shaari NSA *et al.* (2011) Roles of diet, lifetime physical activity and oxidative DNA damage in the occurrence of prostate cancer among men in Klang Valley, Malaysia. *Asian Pac J Cancer Prev* **12**, 605–611.
51. Lin KH, Yang YY, Yang CM *et al.* (2013) Antioxidant activity of herbaceous plant extracts protect against hydrogen peroxide-induced DNA damage in human lymphocytes. *BMC Res Notes* **6**, 490.
52. Serpeloni JM, Barcelos GRM, Friedmann AJP *et al.* (2012) Dietary carotenoid lutein protects against DNA damage and alterations of the redox status induced by cisplatin in human derived HepG2 cells. *Toxicol In Vitro* **26**, 288–294.
53. Epel ES. (2009) Psychological and metabolic stress: a recipe for accelerated cellular aging? *Hormones* **8**, 7–22.
54. Joergensen A, Broedbaek K, Weimann A *et al.* (2011) Association between urinary excretion of cortisol and markers of oxidatively damaged DNA and RNA in humans. *PLoS One* **6**, e20795.
55. Beaton GH, Milner J, McGuire V *et al.* (1983) Source of variance in 24-hour dietary recall data: implications for nutrition study design and interpretation. Carbohydrate sources, vitamins, and minerals. *Am J Clin Nutr* **37**, 986–995.
56. Wolever T, Hamad S, Gittelsohn J *et al.* (1997) Nutrient intake and food use in an Ojibwa-Cree community in Northern Ontario assessed by 24h dietary recall. *Nutr Res* **17**, 603–618.

## 5. DISCUSSÃO GERAL

A alimentação é um requisito essencial para a promoção e a manutenção da saúde e evidências crescentes apontam o seu papel na prevenção e desenvolvimento de doenças crônicas como câncer, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares, entre outras. Embora existam diferentes conceitos sobre alimentação saudável, está bem estabelecido que a ingestão de frutas e hortaliças está associada à prevenção de doenças crônicas e à melhor qualidade de vida (Grundy *et al.*, 1998; Houghton & Stang, 2012; Hammar & Ostgren, 2013; Bauer *et al.*, 2014).

Para avaliar a qualidade de dietas é necessário investigar quais são os elementos nutricionais considerados importantes na promoção da saúde (McCullough *et al.*, 2002; Trichopoulou *et al.*, 2005). Os compostos antioxidantes (vitaminas, carotenoides e polifenóis), presentes, principalmente, em frutas e hortaliças, estão frequentemente associados à prevenção de doenças crônicas (Halliwell, 2012; Wang *et al.*, 2012). A DTAC vem sendo sugerida como uma boa ferramenta utilizada para investigar os efeitos dos antioxidantes na dieta humana (Puchau *et al.* 2009), já que avalia o poder aditivo e sinérgico de todos os compostos antioxidantes presentes nos alimentos consumidos (Serafini & Del Rio, 2004).

O presente estudo avaliou a DTAC de 141 mulheres jovens, a fim de relacionar este parâmetro com a PTAC, a ingestão de nutrientes e com biomarcadores de danos a proteínas, lipídeos e DNA. Embora este seja o primeiro estudo que avaliou a DTAC de uma população saudável brasileira, observou-se que o valor médio de DTAC encontrado (772.081 mg VCE/dia) foi, aproximadamente, 53% superior a DTAC de americanos adultos (Yang *et al.*, 2011) e, aproximadamente, 55% maior que a DTAC de americanos jovens (Wang *et al.*, 2012). A média de DTAC da população estudada pode ter sido superior em função de este estudo ter sido conduzido no

Brasil, que é um país tropical, apresentando uma grande diversidade de alimento vegetais, como frutas e hortaliças, o que pode fazer com o que o consumo destes alimentos seja maior. Além disso, o presente estudo foi realizado apenas com indivíduos do sexo feminino, o que pode também ter colaborado para este resultado ter sido superior aos resultados de outras populações mistas (homens e mulheres), já que os homens tendem a comer menos frutas e hortaliças, quando comparados às mulheres (Booth *et al.*, 2003). A população estudada apresentou alto nível educacional e, geralmente, pessoas com maior nível educacional possuem melhores condições socioeconômicas, o que também pode estar relacionado com uma alimentação de melhor qualidade (Lo *et al.*, 2009).

Apesar dos valores de DTAC do nosso estudo serem superiores a de populações saudáveis americanas (Yang *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012), a população amostrada apresentou ingestão insuficiente de alguns nutrientes (Tabela 1). Estes dados sugerem que a DTAC poderia ter sido ainda maior se o consumo de nutrientes relacionados à atividade antioxidante (vitaminas A, B1, B2, B3, B5, B6, D; zinco e selênio) estivesse de acordo com as recomendações nutricionais preconizadas pelas *Dietary Reference Intakes* (DRI) (National Research Council, 2000). É importante destacar, ainda, que foi avaliado apenas um dia de alimentação das voluntárias e que embora o método aplicado (Recordatório de 24h) seja um instrumento validado (Karvetti & Knuts, 1985; Kahn *et al.*, 1995), este é um resultado estimado da ingestão de nutrientes. Outros inquéritos alimentares, como o Questionário de Frequência Alimentar e o Registro Alimentar, poderiam ser utilizados para avaliar a DTAC.

Os alimentos que mais contribuíram para a aumentar a DTAC foram o chimarrão, café, chá (verde, preto e branco), laranja, suco de laranja, banana, maçã, feijão, suco de uva e brócolis. Estes achados corroboram um estudo realizado na Espanha, onde a DTAC esteve fortemente relacionada com o consumo de vegetais, frutas, legumes, café e chá (Puchau *et al.*, 2010). Estes alimentos

apresentam polifenóis e/ou vitamina C, compostos que foram positivamente correlacionados com a DTAC e PTAC no presente estudo.

**Tabela 1.** Ingestão insuficiente de micronutrientes pela população estudada (n=141).

Nutrientes	Mediana (DI)	DRI*
Cálcio (mg)	555,01 (405,44)	1000,00
Cobre (µg)	1,21 (1,00)	900,00
Ferro (mg)	10,85 (6,05)	18,00
Folato (µg)	217,72 (270,05)	400,00
Iodo (µg)	97,54 (165,09)	150,00
Magnésio (mg)	215,29 (163,95)	310,00
Potássio (mg)	2230,78 (1276,88)	4700,00
Selênio (µg)	0 (0,41)	55,00
Vitamina A (µg)	566,13 (969,08)	700,00
Vitamina B1 (mg)	0,87 (0,60)	1,10
Vitamina B3 (mg)	13,57 (13,95)	14,00
Vitamina B5 (mg)	3,39 (2,67)	5,00
Vitamina B6 (mg)	0,95 (1,00)	1,30
Vitamina D (µg)	2,40 (6,29)	15,00
Vitamina B12 (mg)	2,20 (2,56)	2,40
Zinco (mg)	7,53 (7,18)	8,00

DI, distância interquartílica.

DRI, *Dietary Reference Intakes*.

\*Valores recomendados para mulheres de 19 a 30 anos (National Research Council, 2000).

Dentre estes itens alimentares, o chimarrão, que é uma bebida preparada com infusão de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em água quente, vem sendo bastante estudado pela comunidade científica (Miranda *et al.*, 2008; Branco *et al.*, 2013). Esta bebida apresenta grande conteúdo de polifenóis e além de propriedades antioxidantes, o chimarrão apresenta propriedades hipocolesterolêmica, hepatoprotetora, anti-reumática, vasodilatadora e propriedades anti-inflamatórias (Bastos *et al.*, 2007; Bracesco *et al.*, 2011; Branco *et al.*, 2013). Esta bebida é ampla e tradicionalmente consumida no Sul do Brasil e mostrou-se como uma das principais fontes de antioxidantes na dieta da população estudada, destacando-se, desta forma, a importância do seu consumo. Levando em consideração os benefícios da ingestão desta bebida para a saúde, o seu

consumo poderia ser difundido em outras regiões do país, com a finalidade de aumentar a ingestão de antioxidantes e conseqüentemente diminuir danos oxidativos que estão associados ao desenvolvimento de doenças.

No presente estudo observou-se uma forte correlação da DTAC com a ingestão de polifenóis, sugerindo que estas substâncias foram as que mais contribuíram para a DTAC. A forte correlação entre DTAC e polifenóis já era esperada, já que estes compostos são os antioxidantes mais abundantes na dieta humana (Scalbert & Williamson, 2000; D'Archivio *et al.*, 2007; Khurana *et al.*, 2013) e são amplamente encontrados em frutas, bebidas como chá, café, vinho e sucos de frutas, chocolate e, em menor quantidade, em vegetais, cereais e leguminosas (Scalbert *et al.*, 2002). Os polifenóis vêm sendo considerados compostos dietéticos importantes para a manutenção da saúde, pois assim como outros compostos antioxidantes, podem proteger as células contra danos oxidativos e, conseqüentemente, minimizar os riscos de desenvolvimento de várias doenças degenerativas associadas ao estresse oxidativo como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, entre outras (Sies, 2010; Del Rio *et al.*, 2013; Khurana *et al.*, 2013). Porém, ao contrário das vitaminas, os polifenóis não são considerados compostos essenciais para o desenvolvimento e manutenção de todas as funções vitais ao longo da vida e ainda não existem valores de recomendação para ingestão diária de polifenóis (Williamson & Holst, 2008).

Neste trabalho, observou-se 3 padrões de ingestão de nutrientes pela população estudada. O principal padrão encontrado, denominado padrão Antioxidante, foi composto por fibras, folato, potássio, vitamina C, cobre, magnésio, carboidrato, ferro, polifenóis, manganês, selênio e vitamina A. Este padrão foi positivamente associado com a DTAC e com a PTAC, sugerindo que os alimentos que contém estes nutrientes são também os principais alimentos fonte de antioxidantes. Ao contrário, o padrão Proteína/Gordura, composto por proteína, sódio, gordura saturada, gordura poli-insaturada, vitamina E e cálcio, foi negativamente associado a PTAC. Os principais



representantes destes nutrientes são alimentos de origem animal e, muitas vezes, produtos industrializados, que, quando consumidos em excesso, são prejudiciais à saúde e, além disso, não possuem quantidades significativas de compostos antioxidantes.

O sódio, pertencente ao Padrão Proteína/Gordura, também foi negativamente relacionado à PTAC. As voluntárias apresentaram uma mediana de 1638.93mg de ingestão de sódio, valor superior ao recomendado pelas DRI (1500mg/dia) (National Research Council, 2000). A ingestão elevada de sódio (consumido como sal comum, ou seja, cloreto de sódio) é prejudicial para saúde, pois está associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e renais, osteoporose e câncer (He & MacGregor, 2010). Estima-se que a ingestão de sal, na maioria dos países do mundo, seja de cerca de 10g/dia (Brown *et al.*, 2009), o que representa 4000mg de sódio, ou seja, praticamente 166% a mais do que o valor recomendado pelas DRI.

A ingestão de gordura monoinsaturada foi positivamente correlacionada com os níveis de PTAC. O consumo deste tipo de gordura está associado com a redução da mortalidade cardiovascular em pacientes com doença arterial coronariana e com vários fatores associados à doença cardiovascular como a redução dos níveis de triglicérides, menor risco de desenvolvimento de arritmias e trombose e com a redução da inflamação (Harris, 1997; Connor, 2000; Lopez-Garcia *et al.*, 2004). Além disso, um ensaio clínico realizado com 162 indivíduos também associou positivamente a ingestão de gordura monoinsaturada com o *status* antioxidante do plasma (Vessby *et al.*, 2006), evidenciando a importância desta gordura para a saúde humana. Os níveis de PTAC também foram positivamente correlacionados com a ingestão de manganês e potássio. Estas correlações não estão descritas na literatura, mas estes nutrientes são encontrados, principalmente, em alimentos de origem vegetal, o que pode ter contribuído para os resultados obtidos.

A população estudada apresentou, de forma geral, peso adequado para altura com uma média de IMC de 22,178kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 3,158$ ). O IMC não foi correlacionado com os níveis de danos oxidativos, o que pode ser devido ao pequeno número de voluntárias (17,2% da população) com IMC classificado como sobrepeso (IMC $\geq 25$ kg/m<sup>2</sup>) e obesidade (IMC $\geq 30$ kg/m<sup>2</sup>), já que a obesidade está associada a níveis aumentados de danos oxidativos (Halliwell, 2013). As voluntárias que praticavam atividade física 3 vezes ou mais por semana apresentaram uma mediana de DTAC de 57,01% maior em relação àquelas que não praticavam atividade física, provavelmente devido aos melhores hábitos alimentares das praticantes de atividade física. Este estudo considerou como atividade física qualquer tipo de exercício físico praticado por mais de 30 minutos. As voluntárias relataram a prática de diversos tipos de atividade física como musculação, pilates, corrida, caminhada, dança, yoga, vôlei, etc.. Não foi obtido um número suficiente de voluntárias para avaliar o efeito de cada uma destas atividades nos parâmetros estudados.

O presente estudo avaliou, também, a relação entre DTAC e biomarcadores de danos oxidativos a lipídeos (TBARS) e a proteínas (PC). Os níveis de danos oxidativos a lipídeos foram inversamente correlacionados com a DTAC, sugerindo que o consumo de antioxidantes pode diminuir os danos oxidativos a lipídeos. O consumo de antioxidantes de forma isolada já foi correlacionado com TBARS na literatura (Jacob *et al.*, 2008), porém, esta é a primeira vez que este resultado é associado com a DTAC. Os níveis de danos oxidativos a proteínas não apresentaram correlação com a DTAC, indicando que o TBARS é um indicador melhor para avaliar a relação entre a ingestão de antioxidantes e danos oxidativos.

Além disso, o presente estudo avaliou os níveis plasmáticos de cortisol, já que o estresse psicológico é um dos fatores que modula os danos oxidativos (Wolkowitz *et al.*, 2010; Joergensen *et al.*, 2011; Buckley *et al.*, 2012). Observou-se uma relação positiva entre os níveis de cortisol e os danos ao DNA (ensaio cometa). Os danos ao DNA mostraram correlação negativa com os níveis de

PTAC. Levando em consideração que a integridade do DNA é essencial para a divisão celular e alterações em sua estrutura podem alterar a sua transcrição, tradução e replicação, resultando em mutações e morte celular (Møller *et al.*, 2000), estes resultados sugerem que os danos ao DNA podem ser controlados e/ou minimizados, em parte, por fatores do estilo de vida humano, como alimentação e controle do estresse psicológico. Considerando que o ensaio cometa não detecta mutações, mas sim lesões genômicas que, se não reparadas, podem resultar em mutações, a realização de ensaios de mutagenicidade, como o ensaio de micronúcleos, poderia trazer resultados adicionais para este estudo (Fenech, 2000; Hanawalt & Spivak, 2008).

Em resumo, este trabalho avaliou, pela primeira vez, a correlação entre DTAC e biomarcadores de estresse oxidativo de uma população de mulheres saudáveis no Brasil e verificou-se que maiores níveis de antioxidantes na dieta (DTAC) e no plasma (PTAC) estão correlacionados com menores índices de danos oxidativos a lipídeos (TBARS) e danos ao DNA (Ensaio Cometa), evidenciando a importância da ingestão destes compostos, especialmente polifenóis e vitamina C. Além disso, a DTAC, avaliada pelo Recordatório de 24h, mostrou-se uma ferramenta útil, econômica e não invasiva, para estimar o *status* antioxidante plasmático da população. Estes dados contribuirão para um melhor conhecimento sobre a recomendação de ingestão dietética de antioxidantes para a promoção da saúde pública.

## 6. CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

- A DTAC da população estudada variou de 9.62 a 2226.64 mg VCE/dia. Os alimentos que mais contribuíram para o aumento da DTAC foram chimarrão, café, chá, laranja, suco de laranja, banana, maçã, feijão, suco de uva e brócolis.
- A PTAC da população estudada variou de 0.78 a 2.26 mmol Trolox/L, observando-se uma correlação positiva entre PTAC e DTAC.
- Foram encontradas correlações positivas entre os valores de DTAC e a ingestão de folato, vitamina B5, vitamina C, polifenóis e correlação negativa entre os valores de DTAC e a ingestão de colesterol.
- Foram encontradas correlações positivas entre os valores de PTAC e a ingestão de gordura monoinsaturada, folato, manganês, vitamina C, potássio, polifenóis e correlação negativa entre os valores de PTAC e a ingestão de sódio.
- Foram identificados três padrões principais de ingestão de nutrientes, denominados: padrão Antioxidante, responsável por 33,88% da variância total; padrão Complexo B, responsável por 11,57% da variância total; e padrão Proteína/Gordura, responsável por 7,17% da variância total.
- A análise de regressão linear simples e múltipla mostrou associações significativamente positivas do padrão Antioxidante (composto por fibras, vitamina B1, folato, potássio, vitamina C, cobre, magnésio, carboidrato, ferro, polifenóis, manganês, selênio e vitamina A) com os valores de DTAC e com os valores de PTAC.
- A análise de regressão linear simples e múltipla mostrou associação significativamente negativa do padrão Proteína/Gordura (composto por proteínas, gordura saturada, gordura

monoinsaturada, gordura poli-insaturada, sódio, vitamina E e cálcio) com os valores de PTAC.

- As voluntárias que praticavam atividade física 3 ou mais vezes por semana apresentaram a DTAC significativamente maior em comparação com aquelas que não praticavam atividade física.
- As voluntárias estudadas apresentaram uma média de TBARS de  $3.664 \pm 0.713$  mmol/mL e a análise de regressão linear simples e múltipla mostrou uma associação negativa entre os valores de TBARS e os valores de DTAC.
- As voluntárias estudadas apresentaram uma média de PC de  $4.150 \pm 1.797$  mmol DNPH/mg PTN.
- O índice de dano médio ao DNA encontrado na população estudada foi de  $65.987 \pm 31.473$ , tendo sido observada uma associação positiva entre os níveis de cortisol e o índice de dano ao DNA.

## 7. PERSPECTIVAS

Como continuidade deste trabalho, pretende-se:

- Avaliar as variáveis estudadas (DTAC, PTAC, TBARS, PC, danos ao DNA, cortisol, níveis de ansiedade e depressão) em homens e em mulheres com idade superior a 35 anos.
- Criar um banco de dados com valores de TAC dos alimentos locais.
- Realizar a amostragem em populações de situações socioeconômica diferentes, a fim de investigar relações entre DTAC/PTAC e renda.
- Investigar a DTAC com Questionário de Frequência Alimentar ou outro método que permita avaliar maior quantidade de dias de alimentação dos voluntários.
- Determinar a atividade e expressão de enzimas antioxidantes, tais como SOD, CAT e GPx.
- Realizar o ensaio cometa enzimático, a fim de identificar a presença de danos oxidativos, bem como, a capacidade de reparo destes danos (ensaio de micronúcleos).

## 8. REFERÊNCIAS

- Ames, B. (2001). DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. **Mutat Res**, 475(1-20), 7–20.
- Arranz, L., Guayerbas, N., & De la Fuente, M. (2007). Impairment of several immune functions in anxious women. **J Psychosom Res**, 62(1), 1–8.
- Aseervatham, G. S. B., Sivasudha, T., Jeyadevi, R., & Arul Ananth, D. (2013). Environmental factors and unhealthy lifestyle influence oxidative stress in humans -- an overview. **Environ Sci Pollut Res Int**, 20(7), 4356–69.
- Balluz, L., Kieszak, S., Philen, R., & Mulinare, J. (2000). Vitamin and mineral supplement use in the United States. Results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. **Arch Fam Med**, 9(3), 258–62.
- Bartosz, G. (2010). Non-enzymatic antioxidant capacity assays: Limitations of use in biomedicine. **Free Radic Res**, 44(7), 711–20.
- Bastos, D., Oliveira, D., Matsumoto, R., Carvalho, P., & Ribeiro, M. (2007). Yerba maté: Pharmacological Properties, Research and Biotechnology. **Med Aromat Plant Sci Biotechnol**, 1(1), 37-46.
- Bauer, U., Briss, P., Goodman, R., & Bowman, B. (2014). Prevention of chronic disease in the 21st century: elimination of the leading preventable causes of premature death and disability in the USA. **Lancet**, 5(384), 45–52.

- Benzie, I., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Anal Biochem**, 239(1), 70–6.
- Bewernick, B., & Schlaepfer, T. (2013). Chronic depression as a model disease for cerebral aging. **Dialogues Clin Neurosci**, 15(1), 77–85.
- Bjorntorp, P. (1997). Neuroendocrine factors in obesity. **J Endocrinol**, 193–195.
- Block, G., Patterson, B., & Subar, A. (1992). Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. **Nutr Cancer**, 18(1), 1–29.
- Booth, A., Nowsen, C., Worsley, T., Margerison, C., & Jorna, M. (2003). Dietary approaches for weight loss with increased fruit, vegetables and dairy. **Asia Pac J Clin Nutr**, 12(S10).
- Borza, L. (2014). A review on the cause-effect relationship between oxidative stress and toxic proteins in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. **Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi**, 118(1).
- Bouayed, J., Rammal, H., & Soulimani, R. (2009). Oxidative stress and anxiety. **Oxid Med Cell Longev**, (June), 63–67.
- Bracesco, N., Sanchez, a G., Contreras, V., Menini, T., & Gugliucci, A. (2011). Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **J Ethnopharmacol**, 136(3), 378–84.
- Branco, S., Scola, G., Rodrigues, A. D., Cesio, V., Laprovitera, M., Heinzen, H., Salvador, M. (2013). Anticonvulsant, neuroprotective and behavioral effects of organic and conventional



yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) on pentylenetetrazol-induced seizures in Wistar rats. **Brain Res Bull**, 92, 60–68.

Briviba, K., Bub, A., Möseneder, J., Schwerdtle, T., Hartwig, A., Kulling, S., & Watzl, B. (2008). No differences in DNA damage and antioxidant capacity between intervention groups of healthy, nonsmoking men receiving 2, 5, or 8 servings/day of vegetables and fruit. **Nutr Cancer**, 60(2), 164–70.

Brosse, A., Sheets, E., Lett, H., & Blumenthal, J. (2002). Exercise and the treatment of clinical depression in adults: recent findings and future directions. **Sport Med**, 32(12), 741–60.

Brown, I. J., Tzoulaki, I., Candeias, V., & Elliott, P. (2009). Salt intakes around the world: implications for public health. **Int J Epidemiol**, 38(3), 791–813.

Brumby, S., Chandrasekara, A., McCoombe, S., Torres, S., Kremer, P., & Lewandowski, P. (2011). Reducing psychological distress and obesity in Australian farmers by promoting physical activity. **BMC Public Health**, 11(1), 362.

Buckley, T., Sunari, D., Marshall, A., Bartrop, R., Mckinley, S., & Tofler, G. (2012). Physiological correlates of bereavement and the impact of bereavement interventions. **Dialogues Clin Neurosci**, 14(2), 129–139.

Calvo, G. G., Sánchez, S. H., Rosado, P. P., & García, D. (2011). Effectiveness of physical activity and dietary interventions in South Asian populations: a systematic review. **Nutr Hosp**, 26(4), 685–691.

- Cao, G., Alessio, H., & Cutler, R. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. **Free Radic Mol Med**, 14(3), 303–11.
- Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. **J Nutr Biochem**, 24(8), 1415–22.
- Chakravarti, B., & Chakravarti, D. (2007). Oxidative modification of proteins: age-related changes. **Gerontology**, 53(3), 128–39.
- Chapman, J., Qureshi, N., & Kai, J. (2013). Effectiveness of physical activity and dietary interventions in South Asian populations: a systematic review. **Br J Gen Pract**, 63(607), e104–14.
- Childs, E., & de Wit, H. (2014). Regular exercise is associated with emotional resilience to acute stress in healthy adults. **Front Physiol**, 5(May), 161.
- Chunga, C., Schmidt, D., Steina, M., Morrow, J., & Salomon, R. (2014). Increased oxidative stress in patients with depression and its relationship to treatment. **Psychiatry Res**, 206, 213–216.
- Ciccone, M. M., Cortese, F., Gesualdo, M., Carbonara, S., Zito, A., Ricci, G., Riccioni, G. (2013). Dietary intake of carotenoids and their antioxidant and anti-inflammatory effects in cardiovascular care. **Mediators Inflamm**, 2013, 782137.
- Collins, A. R., Oscoz, A. A., Brunborg, G., Gaivão, I., Giovannelli, L., Kruszewski, M., Stetina, R. (2008). The comet assay: topical issues. **Mutagenesis**, 23(3), 143–51.

- Connor, W. E. (2000). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. **Am J Clin Nutr**, 71(1 Suppl), 171S–5S.
- Corbi, G., Conti, V., Russomanno, G., Rengo, G., Vitulli, P., Ciccarelli, A. L., Ferrara, N. (2012). Is physical activity able to modify oxidative damage in cardiovascular aging? **Oxid Med Cell Longev**, 2012, 728547.
- Cosentino, M., Rasini, E., Colombo, C., Marino, F., Blandini, F., Ferrari, M., Frigo, G. (2004). Dopaminergic modulation of oxidative stress and apoptosis in human peripheral blood lymphocytes: evidence for a D1-like receptor-dependent protective effect. **Free Radic Biol Med**, 36(10), 1233–40.
- Craft, L., & Perna, F. (2006). The Benefits of Exercise for the Clinically Depressed. **Prim Care Companion J Clin Psychiatry**, 6(3).
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Ann Ist Super Sanita**, 43(4), 348–61.
- Da Costa, L., Badawi, A., & El-Soheby, A. (2012). Nutrigenetics and modulation of oxidative stress. **Ann Nutr Metab**, 60 Suppl 3, 27–36.
- De Pergola, G., & Silvestris, F. (2013). Obesity as a major risk factor for cancer. **J Obes**, 2013, 291546.

- Del Rio, D., Agnoli, C., Pellegrini, N., Krogh, V., Brighenti, F., Mazzeo, T., Panico, S. (2011). Total antioxidant capacity of the diet is associated with lower risk of ischemic stroke in a large Italian cohort. **J Nutr**, 141(1), 118–23.
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxid Redox Signal**, 18(14), 1818–92.
- Dilis, V., & Trichopoulou, A. (2010). Antioxidant Intakes and Food Sources in Greek Adults. **J Nutr**, 140(7), 1274–9.
- Dunn, A. L., Trivedi, M. H., Kampert, J. B., Clark, C. G., & Chambless, H. O. (2005). Exercise treatment for depression: efficacy and dose response. **Am J Prev Med**, 28(1), 1–8.
- Duthie, S. J. (1999). Folic acid deficiency and cancer: mechanisms of DNA instability. **Br Med Bull**, 55(3), 578–92.
- Epel, E. S. (2009). Psychological and metabolic stress: a recipe for accelerated cellular aging? **Hormones**, 8(1), 7–22.
- Fenech, M. (2000). The in vitro micronucleus technique. **Mutat Res**, 455(1-2), 81–95.
- Fenech, M., & Ferguson, L. (2001). Vitamins/minerals and genomic stability in humans. **Mutat Res**, 475(1-2), 1–6.

- Field, T., Diego, M., Delgado, J., & Medina, L. (2013). Yoga and social support reduce prenatal depression, anxiety and cortisol. **J Bodyw Mov Ther**, 17(4), 397–403.
- Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Song, W. O., Fernandez, M. L., Bruno, R. S., Chun, O. K. (2010). Development and validation of an algorithm to establish a total antioxidant capacity database of the US diet. **Int J Food Sci Nutr**, 61(6), 600–23.
- Gaziano, J. M., Glynn, R. J., Christen, W. G., Kurth, T., Belanger, C., Macfadyen, J., Buring, J. E. (2010). Vitamins E and C in the Prevention of Prostate and Total Cancer in Men: The Physicians' Health Study II, a Randomized Controlled Trial. **J Am Med Assoc**, 301(1), 52–62.
- Gifkins, D., Olson, S. H., Paddock, L., King, M., Demissie, K., Lu, S.-E., Bandera, E. V. (2012). Total and individual antioxidant intake and risk of epithelial ovarian cancer. **BMC Cancer**, 12(1), 211.
- Golbidi, S., & Laher, I. (2013). Exercise and the aging endothelium. **J Diabetes Res**, 2013, 789607.
- Golbidi, S., Mesdaghinia, A., & Laher, I. (2012). Exercise in the metabolic syndrome. **Oxid Med Cell Longev**, 2012, 349710.
- González, J., Valls, N., Brito, R., & Rodrigo, R. (2014). Essential hypertension and oxidative stress: New insights. **World J Cardiol**, 6(6), 353–66.
- Grosso, G., Bei, R., Mistretta, A., Marventano, S., Calabrese, G., Masuelli, L., Gazzolo, D. (2013). Effects of vitamin C on health: a review of evidence. **Front Biosci**, 1(18), 1017–29.

- Grundy, S. M., Balady, G. J., Criqui, M. H., Fletcher, G., Greenland, P., Hiratzka, L. F., Smith, S. C. (1998). Primary Prevention of Coronary Heart Disease: Guidance From Framingham: A Statement for Healthcare Professionals From the AHA Task Force on Risk Reduction. **Circulation**, 97(18), 1876–1887.
- Hall, M. E., do Carmo, J. M., da Silva, A. a, Juncos, L. a, Wang, Z., & Hall, J. E. (2014). Obesity, hypertension, and chronic kidney disease. **Int J Nephrol Renovasc Dis**, 7, 75–88.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. **Biochem Soc Trans**, 35(Pt 5), 1147–50.
- Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutr Rev**, 70(5), 257–65.
- Halliwell, B. (2013). The antioxidant paradox: less paradoxical now? **Br J Clin Pharmacol**, 75(3), 637–44.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. (2007). **Free Radicals in Biology and Medicine** (3rd. ed.). New York: Editora Oxford.
- Hammar, M., & Ostgren, C. (2013). Healthy aging and age-adjusted nutrition and physical fitness. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol**, 27(5), 741–72.
- Hanawalt, P., & Spivak, G. (2008). Transcription-coupled DNA repair: two decades of progress and surprises. **Nat Rev**, 12, 958–70.

- Harris, S. (1997). n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. **Am J Clin Nutr**, 65(5 Suppl), 1645S–1654S.
- Haughton, B., & Stang, J. (2012). Population risk factors and trends in health care and public policy. **J Acad Nutr Diet**, 112(3), S35–46.
- He, F., & MacGregor, G. (2010). Reducing population salt intake worldwide: from evidence to implementation. **Prog Cardiovasc Dis**, 2(5), 363–82.
- Hermisdorff, H. H. M., Puchau, B., Volp, A. C. P., Barbosa, K. B., Bressan, J., Zulet, M. Á., & Martínez, J. A. (2011). Dietary total antioxidant capacity is inversely related to central adiposity as well as to metabolic and oxidative stress markers in healthy young adults. **Nutr Metab**, 8(1), 59.
- Heuser, V., Erdtmann, B., Kvitko, K., Rohr, P., & da Silva, J. (2007). Evaluation of genetic damage in Brazilian footwear-workers: biomarkers of exposure, effect, and susceptibility. **Toxicology**, 232(3), 235–47.
- Holtan, S. G., O'Connor, H. M., Fredericksen, Z. S., Liebow, M., Thompson, C. a, Macon, W. R., Cerhan, J. R. (2012). Food-frequency questionnaire-based estimates of total antioxidant capacity and risk of non-Hodgkin lymphoma. **Int J cancer**, 131(5), 1158–68.
- Hovatta, I., Juhila, J., & Donner, J. (2010). Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders. **Neurosci Res**, 68(4), 261–75.

- Hozawa, A., Jr, D. R. J., Steffes, M. W., Gross, M. D., Lyn, M., & Lee, D. (2008). Relationships of Circulating Carotenoid Concentrations with Several Markers of Inflammation, Oxidative Stress, and Endothelial Dysfunction: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALT). **Clin Chem**, 53(3), 447–455.
- Jacob, K., Hooten, N., Trzeciak, A., & Evans, M. (2013). Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease. **Mech Ageing Dev**, 134(0), 139–157.
- Jacob, K., Periago, M., Böhm, V., & Berruezo, G. (2008). Influence of lycopene and vitamin C from tomato juice on biomarkers of oxidative stress and inflammation. **Br J Nutr**, 99(1), 137–46.
- Joergensen, A., Broedbaek, K., Weimann, A., Semba, R. D., Ferrucci, L., Joergensen, M. B., & Poulsen, H. E. (2011). Association between urinary excretion of cortisol and markers of oxidatively damaged DNA and RNA in humans. **PloS One**, 6(6), e20795.
- Kahn, H., Whelton, P., Appel, L., Kumanyika, S., Meneses, J., Hebert, P., & Woods, M. (1995). Validity of 24-hour dietary recall interviews conducted among volunteers in an adult working community. **Ann Epidemiol**, 5(6), 484–9.
- Karvetti, R., & Knuts, L. (1985). Validity of the 24-hour dietary recall. **J Am Diet Assoc**, 85(11), 1437–42.
- Khurana, S., Venkataraman, K., Hollingsworth, A., Piche, M., & Tai, T. C. (2013). Polyphenols: benefits to the cardiovascular system in health and in aging. **Nutrients**, 5(10), 3779–827.



- Kobayashi, S., Murakami, K., Sasaki, S., Uenishi, K., Yamasaki, M., Hayabuchi, H., Sugiyamama, Y. (2012). Dietary total antioxidant capacity from different assays in relation to serum C-reactive protein among young Japanese women. **Nutr J**, 11(1), 91.
- Kostka, T., Draï, J., Berthouze, S., Lacour, J., & Bonnefoy, M. (1998). Physical activity, fitness and integrated antioxidant system in healthy active elderly women. **Int J Sport Med**, 19(7), 462–7.
- Krinsky, N. (1993). Actions of carotenoids in biological systems. **Annu Rev Nutr**, 13, 561–87.
- Krinsky, N. I., & Johnson, E. J. (2005). Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Mol Aspects Med**, 26(6), 459–516.
- Kühnau, J. (1976). The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. **World Rev Nutr Diet**, 24, 117–91.
- Kulkarni, R., Acharya, J., Ghaskadbi, S., & Goel, P. (2014). Oxidative stress as a covariate of recovery in diabetes therapy. **Front Endocrinol**, 5(June), 89.
- La Vecchia, C., Decarli, A., Serafini, M., Parpinel, M., Bellocco, R., Galeone, C., Rossi, M. (2013). Dietary total antioxidant capacity and colorectal cancer: a large case-control study in Italy. **Int J Cancer**, 133(6), 1447–51.
- Lesgards, J.-F., Durand, P., Lassarre, M., Stocker, P., Lesgards, G., Lanteaume, A., Lehucher-Michel, M.-P. (2002). Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. **Environ Health Perspect**, 110(5), 479–86.

- Leung, F., Yung, L., Laher, I., Yao, X., Chen, Z., & Huang, Y. (2008). Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an update (Part 1). **Sport Med**, 38(12), 1009–24.
- Levine, M., Rumsey, S., Daruwala, R., Park, J., & Wang, Y. (1999). Criteria and Recommendations for Vitamin C Intake. **Jama**, 281(15), 1415.
- Levine, R., Garland, D., Oliver, C., Amici, A., Climent, I., Lenz, A., Stadtman, E. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods Enzymol**, 186, 464–78.
- Limberaki, E., Eleftheriou, P., Vagdatli, E., Kostoglou, V., & Petrou, C. (2012). Serum antioxidant status among young, middle-aged and elderly people before and after antioxidant rich diet. **Hippokratia**, 16(2), 118–23.
- Lo, Y.-T., Chang, Y.-H., Lee, M.-S., & Wahlqvist, M. L. (2009). Health and nutrition economics: diet costs are associated with diet quality. **Asia Pac J Clin Nutr**, 18(4), 598–604.
- Lodge, J., Hall, W., Jeanes, Y., & Proteggente, A. (2004). Physiological factors influencing vitamin E biokinetics. **Ann N Y Acad Sci**, 60–73.
- Lopez-Garcia, E., Schulze, M. B., Manson, J. E., Meigs, J. B., Albert, C. M., Rifai, N., Hu, F. B. (2004). Consumption of (n-3) fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial activation in women. **J Nutr**, 134(7), 1806–11.
- Luca, M., Luca, A., & Calandra, C. (2013). Accelerated aging in major depression: the role of nitro-oxidative stress. **Oxid Med Cell Longev**, 2013(c), 230797.

- Ma, Q. (2010). Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. **Pharmacol Ther**, 125(3), 376–93.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. **Am J Clin Nutr**, 79(5), 727–47.
- Marangon, K., Herbeth, B., Lecomte, E., Paul-Dauphin, A., Grolier, P., Chancerelle, Y., Siest, G. (1998). Diet , antioxidant status , and smoking habits in French men. **Am J Clin Nutr**, 67(2), 231–9.
- Mateos, R., & Bravo, L. (2007). Chromatographic and electrophoretic methods for the analysis of biomarkers of oxidative damage to macromolecules (DNA, lipids, and proteins). **J Sep Sci**, 30(2), 175–91.
- McCullough, M. L., Feskanich, D., Stampfer, M. J., Giovannucci, E. L., Rimm, E. B., Hu, F. B., Willett, W. C. (2002). Diet quality and major chronic disease risk in men and women: moving toward improved dietary guidance. **Am J Clin Nutr**, 76(6), 1261–71.
- McIntosh, L. J., & Sapolsky, R. M. (1996). Glucocorticoids increase the accumulation of reactive oxygen species and enhance adriamycin-induced toxicity in neuronal culture. **Exp Neurol**, 141(2), 201–6.
- Mena, S., Ortega, A., & Estrela, J. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. **Mutat Res**, 674(1-2), 36–44.

- Millen, A., Dodd, K., & Subar, A. (2004). Use of vitamin, mineral, nonvitamin, and nonmineral supplements in the United States: The 1987, 1992, and 2000 National Health Interview Survey results. **J Am Diet Assoc**, 104(6), 942–50.
- Miranda, D. D. C., Arçari, D. P., Pedrazzoli, J., Carvalho, P. D. O., Cerutti, S. M., Bastos, D. H. M., & Ribeiro, M. L. (2008). Protective effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage and DNA repair in mice. **Mutagenesis**, 23(4), 261–5.
- Møller, P. (2006). The alkaline comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, 98(4), 336–45.
- Møller, P., Knudsen, L., & Loft, S. (2000). The Comet Assay as a Rapid Test in Biomonitoring Occupational Exposure to DNA-damaging Agents and Effect of Confounding Factors The Comet Assay as a Rapid Test in Biomonitoring Occupational Exposure to DNA-damaging Agents and Effect of Confounding Factors. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 9(10), 1005–1015.
- Møller, P., Wallin, H., & Knudsen, L. (1996). Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. **Chem Biol Interact**, 102(1), 17–36.
- National Research Council. (2000). **Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements**. Washington DC: National Academies Press.
- Olive, P. L., & Banáth, J. P. (2006). The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. **Nat Protoc**, 1(1), 23–9.

- Pinho, R. A. De, Araújo, M. C. De, Lima, G., Ghisi, D. M., & Benetti, M. (2009). Article Coronary Heart Disease, Physical Exercise and Oxidative Stress. **Arq Bras Cardiol**, 515–521.
- Pitsavos, C., Panagiotakos, D. B., Tzima, N., Chrysohoou, C., Economou, M., Zampelas, A., & Stefanadis, C. (2005). Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. **Am J Clin Nutr**, 82(3), 694–9.
- Prado, R. P., dos Santos, B. F., Pinto, C. L. D. S., de 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**, 25(5), 483–7.
- Puchau, B., Zulet, M. A., de Echávarri, A. G., Hermsdorff, H. H. M., & Martínez, J. A. (2009). Dietary total antioxidant capacity: a novel indicator of diet quality in healthy young adults. **J Am Coll Nutr**, 28(6), 648–56.
- Puchau, B., Zulet, M. A., de Echávarri, A. G., Hermsdorff, H. H. M., & Martínez, J. A. (2010). Dietary total antioxidant capacity is negatively associated with some metabolic syndrome features in healthy young adults. **Nutrition**, 26(5), 534–41.
- Rahati, S., Shahraki, M., Arjomand, G., & Shahraki, T. (2014). Food pattern, lifestyle and diabetes mellitus. **Int J high risk Behav Addict**, 3(1), e8725.
- Rautiainen, S., Levitan, E. B., Mittleman, M. a, & Wolk, A. (2013). Total antioxidant capacity of diet and risk of heart failure: a population-based prospective cohort of women. **Am J Med**, 126(6), 494–500.

- Rietjens, I. M. C. M., Boersma, M. G., Haan, L. De, Spenkeliink, B., Awad, H. M., Cnubben, N. H. P., Koeman, J. H. (2002). The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. **Environ Toxicol Pharmacol**, 11(3-4), 321–33.
- Rosmond, R., Dallman, M. F., & Björntorp, P. (1998). Stress-related cortisol secretion in men: relationships with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. **J Clin Endocrinol Metab**, 83(6), 1853–9.
- Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. **Am J Clin Nutr**, 81(1 Suppl), 215S–217S.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Crit Rev Food Sci Nutr**, 2005, 45(4), 287–306.
- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Rémésy, C. (2002). Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. **Biomed Pharmacother**, 56(6), 276–82.
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **J Nutr**, 2073–2085.
- Seals, D. R., Walker, A. E., Pierce, G. L., & Lesniewski, L. a. (2009). Habitual exercise and vascular ageing. **J Physiol**, 587(Pt 23), 5541–9.
- Sen, C., Khanna, S., & Roy, S. (2007). Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. **Life Sci**, 78(18), 2088–2098.

- Sen, C., & Packer, L. (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. **Am J Clin Nutr**, 72(2), 653S–69S.
- Serafini, M., & Del Rio, D. (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? **Redox Rep Commun Free Radic Res**, 9(3), 145–52.
- Sies, H. (2010). Polyphenols and health: update and perspectives. **Arch Biochem Biophys**, 501(1), 2–5.
- Singh, N., McCoy, M., Tice, R., & Schneider, E. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Exp Cell Res**, 175(1), 184–91.
- Spencer, J. P. E., Abd El Mohsen, M. M., Minihane, A.-M., & Mathers, J. C. (2008). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. **Br J Nutr**, 99(1), 12–22.
- Sundram, K., Sambanthamurthi, R., & Tan, Y.-A. (2003). Palm fruit chemistry and nutrition. **Asia Pac J Clin Nutr**, 12(3), 355–62.
- Szostak, J., & Laurant, P. (2011). The forgotten face of regular physical exercise: a “natural” anti-atherogenic activity. **Clin Sci**, 121(3), 91–106.
- Talegawkar, S. A., Beretta, G., Yeum, K., Johnson, E. J., Carithers, T. C., Jr, H. A. T., Tucker, K. L. (2009). Total antioxidant performance is associated with diet and serum antioxidants in

participants of the diet and physical activity substudy of the Jackson Heart Study. **J Nutr**, 139(10), 1964–1971.

Teychenne, M., Ball, K., & Salmon, J. (2008). Associations between physical activity and depressive symptoms in women. **Int J Behav Nutr Phys Act**, 5, 27.

Threapleton, D. E., Greenwood, D. C., Nykjaer, C., Woodhead, C., & Cade, J. E. (2013). Dietary fibre intake and risk of cardiovascular disease : systematic review and meta-analysis. **Br Med J**, 6879(December), 1–12.

Trichopoulou, A., Bamia, C., & Trichopoulos, D. (2005). Mediterranean diet and survival among patients with coronary heart disease in Greece. **Arch Intern Med**, 165(8), 929–35.

Vardi, M., Levy, N. S., & Levy, A. P. (2013). Vitamin E in the prevention of cardiovascular disease: the importance of proper patient selection. **J Lipid Res**, 54(9), 2307–14.

Vessby, B., Berglund, L., Uusitupa, M., Hermansen, K., Riccardi, G., Rivellese, A., Basu, S. (2006). Nutrient Physiology, Metabolism, and Nutrient-Nutrient Interactions Dietary ( n-3) Fatty Acids Reduce Plasma F<sub>2</sub>-Isoprostanes but Not Prostaglandin F<sub>2a</sub> in Healthy Humans 1. **J Nutr**, (October 2005), 1222–1228.

Wahlqvist, M. (2013). Antioxidant relevance to human health. **Asia Pac J Clin Nutr**, 22(35), 171–176.

Wang, S., Melnyk, J. P., Tsao, R., & Marcone, M. F. (2011). How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. **Food Res Int**, 44(1), 14–22.



- Wang, Y., Yang, M., Lee, S., Davis, C., Koo, S., & Chun, O. (2012). Dietary total antioxidant capacity is associated with diet and plasma antioxidant status in healthy young adults. **J Acad Nutr Diet**, 112(10), 1626–35.
- Wang, Y., Yang, M., Lee, S.-G., Davis, C. G., Kenny, A., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2012). Plasma total antioxidant capacity is associated with dietary intake and plasma level of antioxidants in postmenopausal women. **J Nutr Biochem**, 23(12), 1725–31.
- Wasson, G. R., McKelvey-Martin, V. J., & Downes, C. S. (2008). The use of the comet assay in the study of human nutrition and cancer. **Mutagenesis**, 23(3), 153–62.
- WHO, & FAO. (2002). **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation**. Geneva.
- Williamson, G., & Holst, B. (2008). Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction? **Br J Nutr**, 99 Suppl 3, S55–8.
- Winklhofer-Roob, B., Rock, E., Ribalta, J., Shmerling, D., & Roob, J. (2003). Effects of vitamin E and carotenoid status on oxidative stress in health and disease. Evidence obtained from human intervention studies. **Mol Aspects Med**, 24(6), 391–402.
- Wojcik, M., Burzynska-Pedziwiatr, I., & Wozniak, L. (2010). A review of natural and synthetic antioxidants important for health and longevity. **Curr Med Chem**, 17(28), 3262–88.
- Wolkowitz, O. M., Epel, E. S., Reus, V. I., & Mellon, S. H. (2010). Depression gets old fast: do stress and depression accelerate cell aging? **Depression and Anxiety**, 27(4), 327–38.

Wright, M. E., Weinstein, S. J., Lawson, K. a, Albanes, D., Subar, A. F., Dixon, L. B., Leitzmann, M. F. (2007). Supplemental and dietary vitamin E intakes and risk of prostate cancer in a large prospective study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 16(6), 1128–35.

Yang, M., Chung, S.J., Chung, C. E., Kim, D.O., Song, W. O., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Estimation of total antioxidant capacity from diet and supplements in US adults. **Br J Nutr**, 106(2), 254–63.

## **9. ANEXOS**

**ANEXO I**

**TERMO DE CONSETIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

## TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a participar voluntariamente da pesquisa **“RELAÇÕES ENTRE CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DIETÉTICA, MARCADORES DE DANOS OXIDATIVOS, ATIVIDADE FÍSICA E NÍVEIS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO EM ESTUDANTES DA UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL”**.

Esta pesquisa pretende avaliar a relação que existe entre o consumo de alimentos saudáveis (antioxidantes), níveis de ansiedade e depressão, prática de atividade física e exames de sangue (que medem danos oxidativos) em mulheres que não relatem nenhum problema de saúde. Os resultados desse estudo permitirão compreender melhor a capacidade antioxidante dietética, os danos oxidativos e os níveis de ansiedade e depressão em mulheres, para que assim, estas informações possam ser amplamente estudadas pela comunidade científica e posteriormente repassadas à população, colaborando para a redução dos danos oxidativos no corpo humano.

Não haverá benefício direto para você, porém, pretende-se que todas as mulheres com características semelhantes às suas sejam beneficiadas com os demais estudos que poderão surgir a partir deste. Além disso, você receberá os resultados de seus exames. Os procedimentos a serem realizados, caso você aceite participar do estudo, são os seguintes:

- 1) Você irá responder a um questionário sobre seus dados pessoais, alimentação, atividade física e sentimentos. Esse procedimento será realizado em uma sala isolada com a presença dos responsáveis pelo estudo e demais voluntárias participantes do mesmo. Estima-se que o tempo para responder o questionário seja de 15 minutos;
- 2) Um profissional capacitado irá coletar 5ml de sangue do seu braço direito ou esquerdo utilizando-se materiais descartáveis para realizar os seguintes exames: dosagem sérica de Cortisol, ACTH, proteínas totais; determinação do dano oxidativo a lipídios, proteínas e ao DNA; definição da capacidade antioxidante total sérica.

Os riscos de sua participação no estudo são pequenos. Prevê-se a possibilidade remota de hematoma (acúmulo de sangue) no local da punção (picada da agulha) que deve desaparecer em cerca 3 a 4 dias. Todas as medidas de prevenção serão tomadas para evitá-lo. Os desconfortos previstos estão relacionados à dor da picada da agulha.

No caso de qualquer evento desfavorável durante a realização da pesquisa, previstos ou imprevistos nesse TCLE, você terá assistência imediata e irrestrita por parte das pesquisadoras. Somente os danos decorrentes da pesquisa com nexo causal serão reparados e indenizados.

Todos os dados serão mantidos em sigilo. As pesquisadoras se comprometem em manter os seus dados arquivados por 6 anos, permitindo que sejam analisados somente por quem estiver implicado diretamente na pesquisa e o profissional que irá analisar estatisticamente os dados. O resultado final da pesquisa será publicado em revista científica e apresentado em evento avaliativo de dissertação, congressos ou outros tipos

de eventos científicos sem que você possa ser identificada. Nenhum outro dado além dos citados neste termo de consentimento será publicado sem sua prévia autorização.

Você não será remunerada por participar da pesquisa, porém terá direito a restituição das despesas de transporte e alimentação, caso se faça necessário para que seja possível a sua participação nesse estudo.

Você está livre para se retirar a qualquer momento durante o período de desenvolvimento da pesquisa sem que haja qualquer tipo de represália, presente ou futura, para você ou pessoas afins.

Se você tiver interesse em conhecer os resultados dos seus exames de sangue, do seu nível de ansiedade e/ou depressão, bem como se quiser uma avaliação da sua dieta, ou ainda se você tiver qualquer dúvida e necessitar de esclarecimentos sobre a pesquisa, você deve contatar as pesquisadoras.

Serão responsáveis pelos esclarecimentos, ou atendimentos que poderão ser necessários, a Prof. Dr.<sup>a</sup> Mirian Salvador e a Nutricionista Natalia Stedile. As formas de contato podem ser por telefone (54-3218-2105) ou no endereço Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130 - Bairro Petrópolis - CEP 95070-560 – Bloco 38 – Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes. O horário disponível é das 8h às 12h e das 13h30min às 17h, de segundas a sextas-feiras, sendo também possível o contato via e-mail: [msalvado@ucs.br](mailto:msalvado@ucs.br) (Mirian) ou [nstedile@ucs.br](mailto:nstedile@ucs.br) (Natalia). Informações no âmbito da ética em pesquisa podem ser obtidas no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Caxias do Sul, por contato telefônico (54-3218-2829) ou no endereço Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130 - Bairro Petrópolis - CEP 95070-560 - Bloco A, sala 321 - no horário das 8h às 12h e das 13h às 16h30min, de segundas a sextas-feiras.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será assinado depois de você tê-lo lido completamente e não restar dúvida para decidir sobre a sua participação voluntária.

### **Autorização da voluntária**

Nome da voluntária: \_\_\_\_\_

Assinatura da voluntária: \_\_\_\_\_

Nome e assinatura de uma testemunha: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Declaração de responsabilidade da pesquisadora:** Expliquei a natureza, objetivos e riscos do estudo. Coloquei-me a disposição para responder perguntas e as respondi totalmente. A voluntária compreendeu minhas explicações e aceitou participar do estudo.

Data: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Nome da entrevistadora: \_\_\_\_\_

Assinatura da entrevistadora: \_\_\_\_\_

**ANEXO II**  
**QUESTIONÁRIO SÓCIO-DEMOGRÁFICO**

### **Cara voluntária,**

Este questionário tem como objetivo avaliar o consumo de alimentos considerados saudáveis (frutas, verduras, etc.), níveis de ansiedade e prática de atividade física. Caso você tenha qualquer dúvida sobre o preenchimento, solicite auxílio da nutricionista que estará lhe acompanhando. Lembre-se que em nenhum momento seu nome será associado às respostas dadas neste questionário.

### **Questionário sobre Dados Pessoais**

1. **Nome:** \_\_\_\_\_

2. **Cidade onde mora:** \_\_\_\_\_

3. **Endereço:** \_\_\_\_\_

3.1 Bairro: \_\_\_\_\_ 3.2 CEP: \_\_\_\_\_

3.3 E-mail (opcional – caso você deseje receber os resultados dos exames):  
\_\_\_\_\_

4. **Idade (em anos):** \_\_\_\_\_

5. **Quanto você pesa (em kg)?** \_\_\_\_\_ 6. **Quanto você tem de altura (em m)?** \_\_\_\_\_

7. **Você realiza atividade física?** (exemplo: musculação, natação, dança, pilates, yoga, vôlei, tênis, etc..)

( ) Sim ( ) Não

Se sim, complete a tabela abaixo. Se não, passe para a próxima página.

<b>Tipo de atividade física:</b>	<b>Frequência semanal</b>	<b>Há quanto tempo pratica (meses)</b>
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		

8. **Qual a renda familiar TOTAL da sua família** (as pessoas que moram com você)?

( ) acima de R\$ 15.300,00 ( ) de R\$ 7.650,00 até R\$ 15.300,00 ( ) de R\$ 3.060,00 até R\$ 7.650,00  
( ) de R\$ 1.020,00 até R\$ 3.060,00 ( ) até R\$ 1.020,00

8.1 Quantas pessoas moram com você? \_\_\_\_\_

9. **Qual seu grau de escolaridade?**

( ) Ensino Fundamental Incompleto ( ) Ensino Fundamental Completo ( ) Ensino Médio Incompleto  
( ) Ensino Médio Completo ( ) Ensino Superior incompleto ( ) Ensino Superior Completo  
( ) Curso de Pós-graduação Incompleto ( ) Curso de Pós-graduação Completo



**ANEXO III**  
**REGISTRO ALIMENTAR DE UM DIA**

## Registro Alimentar de 1 dia

Por favor, descreva na tabela a seguir os alimentos que você ingeriu no dia de ontem, bem como as quantidades (aproximadas) que foram ingeridas. Relate todos os alimentos e bebidas que foram ingeridos em todas as refeições, incluindo lanches, líquidos, petiscos e guloseimas, como balas, sucos, e etc., água não precisa ser listada. Caso não haja espaço suficiente na tabela, preencha no verso.

Exemplo →

<b>Manhã</b>	
Alimento	Quantidade
Leite integral	1 copo tipo requeijão
Achocolatado em pó	1 colher de sopa
Laranja	1 unidade média
Pão cacetinho	1 unidade
Margarina	Passada no pão

<b>MANHÃ</b>			
<i>Alimento</i>	<i>Quantidade</i>	<i>Alimento</i>	<i>Quantidade</i>
<b>ALMOÇO/TARDE</b>			
<i>Alimento</i>	<i>Quantidade</i>	<i>Alimento</i>	<i>Quantidade</i>
<b>NOITE</b>			
<i>Alimento</i>	<i>Quantidade</i>	<i>Alimento</i>	<i>Quantidade</i>

**ANEXO IV**

**RECORDATÓRIO ALIMENTAR ESPECÍFICO DE 24H**

## Recordatório Alimentar Específico de 24h

Na tabela a seguir, assinale com um **X** o número de porções ingeridas no dia de ontem (das 0h às 24h) de cada um dos alimentos listados na primeira coluna. A definição do que significa uma porção está explicada na coluna do meio da tabela. Caso você não tenha ingerido o alimento, deixe a respectiva linha em branco.

Alimentos/Bebidas	Quantidade aproximada	Número de porções consumidas
Abacate	1 porção = ½ unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Abacaxi	1 porção = 1 fatia média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Abóbora ou moranga	1 porção = 1 colher sopa	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Alface	1 porção = 4 folhas médias	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Ameixa	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Banana	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Batata	1 porção = 1 unidade pequena ou 1 colher média de purê	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Beterraba	1 porção = 2 colheres de sopa ou 2 fatias	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Brócolis	1 porção = 2 ramos	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Café	1 porção = 1 xícara de chá ou 4 cafezinhos (unidade comercial)	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Caqui	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Catchup	1 porção = 1 colher de sopa ou 2 sachês	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Cenoura	1 porção = 3 colheres de sopa ou 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Cerveja	1 porção = 1 lata ou 1 garrafa <i>long neck</i>	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Chá verde, preto ou branco	1 porção = 1 xícara	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Chimarrão	1 porção = 1 cuia	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Chocolate amargo/meio amargo	1 porção = 1 barra comercial/individual de 25g	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Espinafre	1 porção = 2 colheres de sopa	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Feijão	1 porção = 1 concha	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Kiwi	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Laranja	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Maçã	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Mamão	1 porção = 2 fatias ou ½ unidade pequena	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Manga	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Melancia	1 porção = 1 pedaço médio	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Melão	1 porção = 1 fatia média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Mirtilo	1 porção = 10 grãos	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Morango	1 porção = 7 unidades médias	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Nectarina ou bergamota	1 porção = 1 unidade grande ou 2 pequenas	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Pêra	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Pêssego	1 porção = 1 unidade média	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Pimentão	1 porção = 1 fatia ou picado nos alimentos	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Suco de frutas em pó	1 porção = 1 copo 250mL (tipo requeijão)	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Repolho roxo	1 porção = 1 colher grande	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Repolho verde	1 porção = 1 colher grande	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Suco de laranja	1 porção = 1 copo 250mL (tipo requeijão)	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Suco de limão/limonada	1 porção = 1 copo 250mL (tipo requeijão)	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Suco de uva	1 porção = 1 copo 250mL (tipo requeijão)	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Tomate ou molho de tomate	1 porção = 3 fatias ou 1 colher grande de molho	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Uva branca/verde	1 porção = 10 gomos/grãos	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Uva roxa/preta		
Vinho branco	1 porção = 1 taça pequena	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +
Vinho tinto	1 porção = 1 taça pequena	<input type="checkbox"/> ½ <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou +

**ANEXO V**

**Hospital Anxiety and Depression Scale**

**“Hospital Anxiety and Depression Scale”**

Assinale com um “X” a alternativa que melhor descreve sua resposta a cada questão.

<b>1. Eu me sinto tensa ou contraída:</b>			
( ) a maior parte do tempo	( ) boa parte do tempo	( ) de vez em quando	( ) nunca
<b>2. Eu ainda sinto que gosto das mesmas coisas de antes:</b>			
( ) sim, do mesmo jeito que antes	( ) não tanto quanto antes	( ) só um pouco	( ) já não consigo ter prazer em nada
<b>3. Eu sinto uma espécie de medo, como se alguma coisa ruim fosse acontecer.</b>			
( ) sim, de jeito muito forte	( ) sim, mas não tão forte	( ) um pouco, mas isso não me preocupa	( ) não sinto nada disso
<b>4. Dou risada e me divirto quando vejo coisas engraçadas.</b>			
( ) do mesmo jeito que antes	( ) atualmente um pouco menos	( ) atualmente bem menos	( ) não consigo mais
<b>5. Estou com a cabeça cheia de preocupações.</b>			
( ) a maior parte do tempo	( ) boa parte do tempo	( ) de vez em quando	( ) raramente
<b>6. Eu me sinto alegre:</b>			
( ) nunca	( ) poucas vezes	( ) muitas vezes	( ) a maior parte do tempo
<b>7. Consigo ficar sentada à vontade e me sentir relaxada:</b>			
( ) sim, quase sempre	( ) muitas vezes	( ) poucas vezes	( ) nunca
<b>8. Eu estou lenta para pensar e fazer coisas.</b>			
( ) quase sempre	( ) muitas vezes	( ) poucas vezes	( ) nunca
<b>9. Eu tenho uma sensação ruim de medo, como um frio na barriga ou um aperto no estômago.</b>			
( ) nunca	( ) de vez em quando	( ) muitas vezes	( ) quase sempre
<b>10. Eu perdi o interesse em cuidar da minha aparência.</b>			
( ) completamente	( ) não estou mais me cuidando como eu deveria	( ) talvez não tanto quanto antes	( ) me cuido do mesmo jeito que antes
<b>11. Eu me sinto inquieta, como se eu não pudesse ficar parada em lugar nenhum.</b>			
( ) sim, demais	( ) bastante	( ) um pouco	( ) não me sinto assim
<b>12. Fico animada esperando as coisas boas que estão por vir.</b>			
( ) do mesmo jeito que antes	( ) um pouco menos que antes	( ) bem menos que antes	( ) quase nunca
<b>13. De repente tenho a sensação de entrar em pânico.</b>			
( ) a quase todo momento	( ) várias vezes	( ) de vez em quando	( ) não sinto isso
<b>14. Consigo sentir prazer quando assisto a um bom programa de televisão, quando escuto rádio ou quando leio alguma coisa.</b>			
( ) quase sempre	( ) várias vezes	( ) poucas vezes	( ) quase nunca

Agradecemos muito a sua colaboração. Caso você tenha qualquer dúvida ou queira retirar-se da pesquisa, por favor, entre em contato com as responsáveis pela pesquisa através dos telefones: 54-9176-1732 (Natalia Stedile), 54-3218-2105 (Mirian Salvador) ou através do e-mail: natalia.stedile@yahoo.com.br.

**Para preenchimento do entrevistador:**

Data da entrevista: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Conferido por: \_\_\_\_\_

Número da amostra: \_\_\_\_\_

**ANEXO VI**

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** RELAÇÕES ENTRE CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DIETÉTICA, MARCADORES DE DANOS OXIDATIVOS, ATIVIDADE FÍSICA E NÍVEIS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO EM ESTUDANTES DA UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

**Pesquisador:** Natalia Stedile

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 11447712.4.0000.5321

**Instituição Proponente:** Fundação Universidade de Caxias do Sul - FUCS/RS

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 167.711

**Data da Relatoria:** 11/12/2012

#### Apresentação do Projeto:

A dieta adequada, prática de exercício físico e redução dos níveis de ansiedade desempenham um papel fundamental na prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo. No entanto, até o momento ainda não existem dados acerca da contribuição de cada um destes fatores e/ou de sua interação no metabolismo redox. Em vista disso, este estudo tem como objetivo avaliar a relação existente entre o consumo de alimentos antioxidantes, níveis de ansiedade e depressão, prática de atividade física, marcadores séricos de estresse oxidativo em mulheres sedentárias ou praticantes de atividade física regular. Serão recrutadas, no mínimo, 150 mulheres com idade entre 18 e 35 anos e que não tenham relatado nenhum tipo de queixa/sintoma em relação à sua saúde. Serão excluídas da pesquisa mulheres tabagistas e que fazem uso de medicação e/ou suplementação antioxidante de forma contínua. Todas as voluntárias deverão preencher um questionário específico sobre o consumo de alimentos considerados ricos em compostos antioxidantes, prática de exercício físico e níveis de ansiedade e depressão (escala HAD, Hospital Anxiety and Depression Scale. A determinação da capacidade antioxidante total da dieta será calculada conforme metodologia descrita por Floegel et al (2010). Serão mensurados os níveis séricos de danos oxidativos a lipídios (TBARS), proteínas (proteínas carboniladas) e a capacidade antioxidante total sérica (QuantiChrom™ Antioxidant Assay) das voluntárias. Os danos ao DNA serão avaliados pelo ensaio Cometa. A determinação dos níveis de cortisol e ACTH será feita utilizando-se kit comercial específico (Roche). Os resultados acerca dos danos biológicos serão correlacionados com a dieta,

**Endereço:** Rua Francisco Getulio Vargas, 1130

**Bairro:** Petrópolis

**CEP:** 95.070-560

**UF:** RS

**Município:** CAXIAS DO SUL

**Telefone:** (54)3218-2100

**Fax:** (54)3218-2100

**E-mail:** mbjustin@ucs.br



prática de exercício físico e níveis de ansiedade e depressão das voluntárias estudadas.

Hipótese:

Os antioxidantes dietéticos, os níveis de ansiedade e depressão e a prática de atividade física possuem relação com os marcadores de estresse oxidativo?

Metodologia Proposta:

Farão parte do estudo 128 mulheres, incluindo sedentárias e praticantes de atividade física regular, com idade entre 18 e 35 anos e que não tenham relatado nenhum tipo de queixa/sintoma em relação à sua saúde. Serão excluídas da pesquisa mulheres tabagistas e que fazem uso de medicação e/ou suplementação antioxidante de forma contínua. As voluntárias serão estudantes da Universidade de Caxias do Sul (UCS). Será realizado sorteio para amostra por conglomerado (conforme descrição detalhada no projeto em anexo). Após explicação detalhada do projeto às voluntárias, leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Anexo I), preenchimento de questionário específico (Anexo II) e coleta de sangue (vide item 4.3). Após a leitura e assinatura do TCLE, cada voluntária deverá preencher um questionário (Anexo II), o qual incluirá informações sobre o consumo de alimentos considerados ricos em compostos antioxidantes, prática de exercício físico e níveis de ansiedade e depressão. O nível de ansiedade e depressão será mensurado através da escala HAD - "Hospital Anxiety and Depression Scale - (Zigmond, 1983).

A escala HAD contém 14 questões do tipo múltipla escolha. Compõe-se de duas subescalas, para ansiedade e depressão, com sete itens cada. A pontuação global em cada subescala vai de 0 a 21. Durante o preenchimento do questionário, a voluntária poderá, a qualquer momento, esclarecer possíveis dúvidas com a nutricionista que acompanhará esta etapa. Após responder o questionário, a voluntária será encaminhada para a coleta de sangue. Serão coletados, aproximadamente, 5ml de sangue periférico do braço direito ou esquerdo. A coleta será realizada por profissional capacitado, utilizando-se materiais descartáveis. As amostras de sangue serão esfriadas e imediatamente transportadas ao Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes (UCS) aonde serão centrifugadas. O soro será aliquotado, etiquetado sem identificação do nome da voluntária, e armazenado a -80°C até a realização dos ensaios descritos neste projeto. A avaliação do dano oxidativo a lipídios será feita através da quantificação dos produtos resultantes da peroxidação lipídica capazes de reagir com o ácido tiobarbitúrico (TBARS). O dano oxidativo a proteínas será avaliado pela quantificação de proteínas carboniladas e os danos ao DNA pelo ensaio Cometa. A determinação dos níveis de cortisol, ACTH e da capacidade antioxidante total sérica serão

Endereço: Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130  
Bairro: Petrópolis CEP: 95.070-560  
UF: RS Município: CAXIAS DO SUL  
Telefone: (54)3218-2100 Fax: (54)3218-2100 E-mail: mbjustin@ucs.br

realizados utilizando-se kits específicos. Para determinação da CATD será utilizado um recordatório alimentar específico de 24h (Anexo II), que avalia o consumo de alimentos ricos em antioxidantes. O cálculo será realizado conforme metodologia descrita por Floegel et al (2010). Os resultados desse estudo serão comunicados, individualmente, às voluntárias, em datas pré-definidas, em, no máximo, 10 meses após a coleta de sangue.

**Critério de Inclusão:**

Mulheres com idade entre 18 e 35 anos que não tenham relatado nenhum tipo de queixa/sintoma em relação à sua saúde.

**Critério de Exclusão:**

Serão excluídas da pesquisa mulheres tabagistas e que fazem uso de medicação e/ou suplementação antioxidante de forma contínua

**Metodologia de Análise de Dados:**

Serão calculadas as médias e valores mínimos e máximos para os dados de idade, peso, altura, renda e grau de escolaridade que caracterizam a amostra. Os resultados da capacidade antioxidante total da dieta, danos oxidativos a lipídios, proteínas e DNA serão analisados por suas médias e desvios-padrão. Os resultados obtidos a partir do questionário de ansiedade e depressão (Hospital Anxiety and Depression Scale) serão avaliados pelo percentual da população estudada através dos resultados da pontuação global de cada subescala do questionário (0 a 21 pontos). Para análise de variável dicotômica, prática de atividade física, será utilizado o Teste T-Student. Para a análise comparativa bivariada das variáveis numéricas (capacidade antioxidante total da dieta e marcadores de danos oxidativos) será utilizada a Correlação de Spearman ou Pearson. Os dados serão analisados utilizando-se o software estatístico SPSS versão 19.0 e o nível de significância máximo será de 5% ( $p=0,05$ ).

**Desfecho Primário:**

Conhecimento do principal fator (dieta, níveis de ansiedade e depressão ou exercício físico) que influenciam os danos oxidativos e de sua possível interação (efeito sinérgico).

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Relacionar o consumo de alimentos antioxidantes, níveis de ansiedade e depressão, fator atividade física, marcadores séricos de estresse oxidativo em mulheres que não relatem nenhum problema de saúde.

**Objetivo Secundário:**

Calcular a capacidade antioxidante total da dieta das voluntárias através de um recordatório alimentar específico de 24h;

Quantificar os danos oxidativos a lipídios (através dos produtos de reação com o ácido tiobarbitúrico), a proteínas (através do teste de proteínas carboniladas) e ao DNA (Ensaio Cometa) nas mulheres amostradas;

Determinar a capacidade antioxidante total sérica nas voluntárias do estudo;

Avaliar o nível de ansiedade e depressão das participantes através da escala HAD - "Hospital Anxiety and Depression Scale";

Determinar os níveis séricos de cortisol e do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) das mulheres estudadas;  
Correlacionar os marcadores de danos biológicos com a dieta, prática de exercício físico e níveis de ansiedade e depressão das voluntárias estudadas.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Não há riscos para o voluntário participante do projeto. Porém, eventualmente poderão ocorrer dor e hematomas na região da picada da agulha.

**Benefícios:**

Os resultados desse estudo poderão contribuir para um melhor entendimento das elações entre dieta saudável (antioxidante), ansiedade e depressão, e maior predisposição ao desenvolvimento de determinadas doenças. As voluntárias ficarão sabendo dos resultados dos seus exames de sangue, dos seus níveis de ansiedade e depressão e terão uma avaliação de suas dietas.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa aprovada com pendência no TCLE na última reunião do CEP.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

A pendência do TCLE foi respondida e o documento apresentado está de acordo com a Resolução CNS 196/96

**Recomendações:**

Aprovar

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Apto para começar

Endereço: Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130

Bairro: Petrópolis

CEP: 95.070-560

UF: RS

Município: CAXIAS DO SUL

Telefone: (54)3218-2100

Fax: (54)3218-2100

E-mail: mbjustin@ucs.br

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

CAXIAS DO SUL, 10 de Dezembro de 2012

---

**Assinador por:**  
**Wilson Paloschi Spiandorello**  
(Coordenador)

**Endereço:** Rua Francisco Getulio Vargas, 1130  
**Bairro:** Petrópolis **CEP:** 95.070-560  
**UF:** RS **Município:** CAXIAS DO SUL  
**Telefone:** (54)3218-2100 **Fax:** (54)3218-2100 **E-mail:** mbjustin@ucs.br

**ANEXO VII**  
**CURRICULUM VITAE DA CANDIDATA**

**Natalia Stedile**  
Curriculum Vitae

Agosto/2014

## Natalia Stedile

Curriculum Vitae

---

### Dados pessoais

**Nome** Natalia Stedile  
**Filiação** Rudinei Antônio Stedile e Vera Salete Miotto Stedile  
**Nascimento** 09/09/1988 - Caxias do Sul/RS - Brasil  
**Carteira de Identidade** 1079484927 SJS - RS - 17/07/2006  
**CPF** 003.920.780-31

**Endereço residencial** Rua Jacinto Francisco D' Aguiar  
Panazzolo - Caxias do Sul  
95084280, RS - Brasil  
Telefone: 54 91761732

**Endereço profissional** Consultório  
Rua Carlos Giesen, 1297 - 104  
Exposição - Caxias do Sul  
95084220, RS - Brasil  
Telefone: 54 34193916

**Endereço eletrônico**  
E-mail para contato : stedilenatalia@gmail.com

---

### Formação acadêmica/titulação

- 2012** Mestrado em Biotecnologia.  
Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil  
Título: Relações entre capacidade antioxidante dietética, marcadores de danos oxidativos, atividade física e níveis de ansiedade e depressão em estudantes da Universidade de Caxias do Sul  
Orientador: Mirian Salvador  
Co-orientador: João Antonio Pegas Henriques  
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- 2011 - 2012** Especialização em Nutrição Clínica Personalizada.  
Instituto de Pesquisa, Ensino e Gestão em Saúde, IPGS, Brasil  
Título: Doenças cardiovasculares e o uso de suplementos antioxidantes: revisão da literatura e atualização para nutricionistas  
Orientador: Ana Carolina Andretti
- 2010 - 2011** Especialização em Nutrição Clínica e Estética.  
Instituto de Ensino, Pesquisa e Gestão em Saúde, IPGS, Brasil  
Título: Fatores de risco para o desenvolvimento de bulimia nervosa: uma revisão sistemática da literatura  
Orientador: Rafael Marques Soares
- 2006 - 2010** Graduação em Nutrição.  
Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil  
Título: Perfil Nutricional e Autopercepção da Imagem Corporal de Universitários Praticantes de Atividade Física  
Orientador: Carin Weirich Gallon

---

## **Formação complementar**

<b>2014 - 2014</b>	Curso de curta duração em Nutrição nas Alergias e Intolerâncias Alimentares. Instituto Ana Paula Pujol, IAPP, Brasil
<b>2014 - 2014</b>	Curso de curta duração em Técnicas Psicológicas e Comportamentais. Instituto de Pesquisa, Ensino e Gestão em Saúde, IPGS, Brasil
<b>2013 - 2013</b>	Estágio Docência em Técnica Dietética II. Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
<b>2013 - 2013</b>	Curso de curta duração em Disbiose, detoxificação e dietoterapia. Instituto de Pesquisa, Ensino e Gestão em Saúde, IPGS, Brasil
<b>2012 - 2012</b>	Inglês P/ Proficiência de Mestrado e Doutorado 1. Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
<b>2012 - 2012</b>	Curso de curta duração em Capacitação para Nutricionistas do PNAE. Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição Escolar - UFRGS, CECANE - UFRGS, Brasil
<b>2011 - 2011</b>	Curso de curta duração em Exames laboratoriais avançados: interpretação. Instituto Ana Paula Pujol, IAPP, Brasil
<b>2011 - 2011</b>	Curso de curta duração em Nutrição para Esportistas. Instituto Ana Paula Pujol, IAPP, Brasil
<b>2011 - 2011</b>	Curso de curta duração em Alimentação escolar: controle higiênico-sanitário. Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição Escolar - UFRGS, CECANE - UFRGS, Brasil
<b>2009 - 2010</b>	Inglês nível intermediário alto. Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
<b>2010 - 2010</b>	Workshop de Dicção e Oratória. Link Idiomas, LI, Brasil
<b>2009 - 2009</b>	Atendimento clínico-nutricional realizado no SUS. Prefeitura Municipal de São Marcos, PMSM, Brasil
<b>2009 - 2009</b>	Curso Intensivo de Inglês. Language School Canada, LSC, Canadá
<b>2009 - 2009</b>	Censo Nutricional dos Alunos das Escolas Públicas. Prefeitura Municipal de Caxias do Sul, PMCS, Caxias Do Sul, Brasil
<b>2009 - 2009</b>	Orientação nutricional para desportistas. Academia Corpo Livre, ACL, Brasil
<b>2008 - 2008</b>	Curso de curta duração em Curso Jovem Pesquisador - Prog. Educação pelo Trab. Núcleo Estadual do Ministério da Saúde no Rio Grande do Sul, NEMS/RS, Porto Alegre, Brasil



<b>2008 - 2008</b>	Curso de curta duração em Cozinha Brasil - Aproveitamento Integral de Alimen. SESI - Departamento Regional do Estado do Rio Grande do Sul, SESI-DRRS, Rio Grande, Brasil
<b>2007 - 2007</b>	Curso de Inglês. Speakeasy Escola de Idiomas, SEI, Brasil
<b>2007 - 2007</b>	Projeto Merenda Saudável. Prefeitura Municipal de São Marcos, PMSM, Brasil
<b>2007 - 2007</b>	Extensão universitária em Micologia clínica : micoses sistêmicas. Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
<b>2006 - 2006</b>	Extensão universitária em Workshop Multidisciplinar em Diabetes. Universidade de Caxias do Sul, UCS, Caxias Do Sul, Brasil
<b>2005 - 2005</b>	Curso de Inglês. Wizard Brasil, WIZARD, Fortaleza, Brasil
<b>2002 - 2004</b>	Curso de Inglês. Speakeasy Escola de Idiomas, SEI, Brasil
<b>2000 - 2000</b>	Curso de Inglês. Speakeasy Escola de Idiomas, SEI, Brasil

---

## Atuação profissional

### 1. Faculdade da Serra Gaúcha - FSG

---

#### Vínculo institucional

**2014 - Atual** Vínculo: Celetista , Enquadramento funcional: Professora do Curso de Nutrição , Carga horária: 4, Regime: Parcial

### 2. Consultório de Nutrição - CN

---

#### Vínculo institucional

**2010 - Atual** Vínculo: Autônoma , Enquadramento funcional: Nutricionista Clínica , Carga horária: 25, Regime: Parcial

---

#### Atividades

**10/2012 - 10/2012** Conselhos, Comissões e Consultoria, DAL ZOTTO E TRENTIN LTDA FRUTAS, VERDURAS E ARTESANATO

*Especificação:  
Manual de Boas Práticas de Fabricação de Alimentos*

**08/2012 - 08/2012** Conselhos, Comissões e Consultoria, Dall Agnol Lancheria Ltda

*Especificação:  
Manual de Boas Práticas de Fabricação de Alimentos*

**05/2012 - 06/2012** Conselhos, Comissões e Consultoria, Dall Agnol Lancheria Ltda

*Especificação:*

**03/2011 - 03/2011** Conselhos, Comissões e Consultoria, Casa de Repouso Convivência Ltda

*Especificação:*

*Desenvolvimento de Manual de Boas Práticas de Fabricação de Alimentos*

**03/2011 - 05/2012** Conselhos, Comissões e Consultoria, Casa de Repouso Convivência Ltda

*Especificação:*

*Fornecimento de Cardápios Mensais*

### **3. Clínica Miotto & Buttelli Saúde Ltda - CMB SAÚDE LTDA**

---

#### **Vínculo institucional**

**2010 - Atual** Vínculo: Autônoma , Enquadramento funcional: Nutricionista Clínica , Carga horária: 8, Regime: Parcial

### **4. Universidade de Caxias do Sul - UCS**

---

#### **Vínculo institucional**

**2014 - 2014** Vínculo: Professor Visitante , Enquadramento funcional: Professor , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2013 - 2013** Vínculo: Professor Visitante , Enquadramento funcional: Professor , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2012 - 2012** Vínculo: Estágio voluntário , Enquadramento funcional: Estagiária no Lab. Estresse Oxidativo , Carga horária: 20, Regime: Parcial

**2009 - 2009** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina: Educação Nutricional , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2009 - 2009** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina: Dietoterapia I , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2009 - 2009** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina: Nutrição e At. Física , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2009 - 2009** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina: Dietoterapia II , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2009 - 2009** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina: Nutrição e At. Física , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2008 - 2008** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina: Técnica Dietética I , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2008 - 2008** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina: Avaliação Nutricional , Carga horária: 4, Regime: Parcial

**2008 - 2008** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina: Avaliação Nutricional , Carga horária: 4, Regime: Parcial

### **5. Prefeitura Municipal de São Marcos - PMSM**

---

#### **Vínculo institucional**

**2011 - 2012** Vínculo: Servidor público , Enquadramento funcional: Nutricionista Responsável Técnica , Carga horária: 30, Regime: Parcial

---

## Atividades

**01/2012 - 12/2012** Direção e Administração, Secretaria Municipal da Saúde

*Cargos ocupados:*

*Nutricionista Responsável pelo Grupo de Emagrecimento do Sistema Único de Saúde (SUS)*

**06/2011 - 12/2011** Pesquisa e Desenvolvimento, Secretaria Municipal de Educação

*Linhas de pesquisa:*

*Censo Nutricional Escolas Públicas do Município*

**01/2011 - 12/2012** Conselhos, Comissões e Consultoria, Conselho de Alimentação Escolar

*Especificação:*

*Nutricionista do Conselho de Alimentação Escolar (CAE)*

## 6. Express Restaurantes Empresariais Ltda - ERE

---

### Vínculo institucional

**2010 - 2011** Vínculo: Colaborador , Enquadramento funcional: Nutricionista , Carga horária: 44, Regime: Dedicção exclusiva

## 7. Ministério da Educação - MEC

---

### Vínculo institucional

**2008 - 2009** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Monitora do Programa de Ensino pelo Trabalho , Carga horária: 8, Regime: Parcial.

---

## Áreas de atuação

1. Nutrição
2. Dietética
3. Biotecnologia
4. Bioquímica da Nutrição
5. Saúde Coletiva

---

## Projetos

Projetos de pesquisa **2012 - Atual** Relações entre capacidade antioxidante dietética, marcadores de danos oxidativos, atividade física e níveis de ansiedade e depressão em estudantes da Universidade de Caxias do Sul

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (3); Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: Natalia Stedile (Responsável); ; Mirian Salvador; Camila Dallavechia de Col; Raquel

Canuto; Juliane Souza de Sene; Adriana Stolfo; João Antonio Pegas Henriques; Gabrielle Nunes de Sousa Wisin

Financiador(es): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES

---

## Idiomas

<b>Inglês</b>	Compreende Bem, Fala Razoavelmente , Escreve Bem, Lê Bem
<b>Espanhol</b>	Compreende Bem, Fala Pouco, Escreve Pouco, Lê Razoavelmente

---

## Prêmios e títulos

**2012** Proficiência em Língua Inglesa, Universidade de Caxias do Sul

---

## Produção

---

### Produção bibliográfica

#### Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. STOLFO, A., **STEDILE, N.**, HENRIQUES, J. A. P., SALVADOR, M.  
Influência da capacidade antioxidante total da dieta nos biomarcadores de danos oxidativos em mulheres saudáveis In: XII Semana Acadêmica do Curso de Farmácia, 2014, Caxias do Sul.  
**XII Semana Acadêmica do Curso de Farmácia.** , 2014.

2. STOLFO, A., **STEDILE, N.**, HENRIQUES, J. A. P., SALVADOR, M.  
Relação entre a capacidade antioxidante total da dieta e marcadores de estresse oxidativo em mulheres jovens In: XXII Encontro de Jovens Pesquisadores da Universidade de Caxias do Sul, 2014, Caxias do Sul.  
**XXII Encontro de Jovens Pesquisadores da Universidade de Caxias do Sul.** , 2014.

3. SENE, J. S., **STEDILE, N.**, HENRIQUES, J. A. P., SALVADOR, M.  
Relação entre danos ao DNA, estresse psicológico e prática de atividade física em mulheres jovens In: XXII Encontro de Jovens Pesquisadores da Universidade de Caxias do Sul, 2014, Caxias do Sul.  
**XXII Encontro de Jovens Pesquisadores da Universidade de Caxias do Sul.** , 2014.

4. SENE, J. S., **STEDILE, N.**, HENRIQUES, J. A. P., SALVADOR, M.  
Relação entre danos ao DNA, estresse psicológico e prática de atividade física em mulheres jovens In: XII Semana Acadêmica do Curso de Farmácia, 2014, Caxias do Sul.  
**XII Semana Acadêmica do Curso de Farmácia.** , 2014.

5. COL, C. D., **STEDILE, N.**, SALVADOR, M.  
Capacidade antioxidante da dieta e marcadores de estresse oxidativo em mulheres saudáveis In: XXI Encontro de Jovens Pesquisadores da Universidade de Caxias do Sul, 2013, Caxias do Sul.  
**XXI Encontro de Jovens Pesquisadores da Universidade de Caxias do Sul.** , 2013.

6. **STEDILE, N.**, COL, C. D., SALVADOR, M.  
Dietary total antioxidant capacity and oxidative stress markers of healthy women In: VIII Meeting of the Society for Free Radical Biology and Medicine - South American Group, 2013, Buenos Aires.

**VIII Meeting of the Society for Free Radical Biology and Medicine - South American Group . , 2013.**

#### **Artigos em jornal de notícias**

**1. STEDILE, N.**

Campanha Fome, Obesidade e Desperdício. Jornal São Marcos Online. Internet, 2011.

#### **Apresentação de trabalho e palestra**

**1. STEDILE, N.**

**Alimentação Saudável para crianças e adolescentes**, 2013. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

**2. STEDILE, N.**

**Capacitação de merendeiras**, 2012. (Comunicação,Apresentação de Trabalho)

**3. STEDILE, N.**

**Orientação nutricionais para professores e pais de bebês e crianças**, 2012. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

**4. STEDILE, N.**

**Orientação nutricionais para professores e pais de bebês e crianças**, 2012. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

**5. STEDILE, N.**

**Palestra sobre hábitos alimentares saudáveis na adolescência**, 2012. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

**6. STEDILE, N.**

**10 passos para alimentação saudável de crianças e adolescentes**, 2012. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

**7. STEDILE, N.**

**10 passos para alimentação saudável de crianças e adolescentes**, 2012. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

**8. STEDILE, N.**

**A pirâmide alimentar e os 10 passos da alimentação saudável**, 2011. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

**9. STEDILE, N.**

**Capacitação sobre a merenda escolar**, 2011. (Comunicação,Apresentação de Trabalho)

**10. STEDILE, N.**

**Nutrição e doenças**, 2011. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

**11. STEDILE, N.**

**Nutrição e qualidade de vida para adultos**, 2011. (Conferência ou palestra,Apresentação de Trabalho)

12. **STEDILE, N.**

**Orientação nutricionais para professores e pais de bebês e crianças de até 2 anos de idade,** 2011. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)

13. **STEDILE, N.**

**Transtornos alimentares na infância e adolescência,** 2011. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)

## **Produção técnica**

### **Entrevistas, mesas redondas, programas e comentários na mídia**

1. **STEDILE, N.**

**Alimentação na tensão pré-mestrual,** 2013

2. **STEDILE, N.**

**Importância da Alimentação Saudável,** 2009

3. **STEDILE, N.**

**Importância da Alimentação Saudável,** 2009

### **Demais produções técnicas**

1. **STEDILE, N.**

**Manual de Boas Práticas de Fabricação de Alimentos - Alimentação Escolar,** 2011. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional)

---

## **Orientações e Supervisões**

### **Orientações e supervisões**

#### **Orientações e supervisões concluídas**

#### **Iniciação científica**

1. Adriana Stolfo. **RELAÇÃO ENTRE DIETA ANTIOXIDANTE, NÍVEIS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.** 2013. Iniciação científica (Farmácia) - Universidade de Caxias do Sul

2. Juliane Sene. **RELAÇÃO ENTRE DIETA ANTIOXIDANTE, NÍVEIS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.** 2013. Iniciação científica (Farmácia) - Universidade de Caxias do Sul

3. Camila Dallavechia de Col. **RELAÇÃO ENTRE DIETA ANTIOXIDANTE, NÍVEIS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO.** 2012. Iniciação científica (Nutrição) - Universidade de Caxias do Sul

---

## Eventos

### Eventos

#### Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Painel no(a) **VIII Meeting of the Society Free Radical Biology and Medicine-South American Group**, 2013. (Congresso)  
Dietary total antioxidant capacity and oxidative stress markers of healthy women.
2. **II Simpósio Internacional de Estresse Oxidativo e Doenças Cardiovasculares**, 2013. (Simpósio)
3. Apresentação Oral no(a) **Semana da Saúde - Secretaria Municipal de Saúde**, 2011. (Oficina)  
10 passos para alimentação saudável.
4. **IV Jornada da Liga de Cuidados Paliativos**, 2009. (Outra)
5. **Jornada de Interação de Alimentos x Medicamentos**, 2009. (Outra)
6. Apresentação (Outras Formas) no(a) **Estudo da Alimentação de Escolares**, 2008. (Outra)  
Monitoramento de peso de escolares da Escola Estadual Santa Catarina.
7. **II Encontro Caxiense de Agricultura Orgânica Sustentável.**, 2008. (Encontro)
8. **Jornada de Nutrição em Cardiologia**, 2008. (Outra)
9. **Jornada de Nutrição Clínica**, 2008. (Outra)
10. **Palestra do curso de Nutrição: Habilidades e Competências do Nutricionista em Unidades de Alimentação e Nutrição**, 2008. (Outra)
11. **Palestra do curso de Nutrição: Soja na Alimentação**, 2008. (Outra)
12. **Palestra do curso de Nutrição: Saúde Pública em Caxias do Sul**, 2008. (Outra)
13. **I Jornada Acadêmica de Nutrição da UFRGS**, 2008. (Outra)
14. **I Congresso Científico Interdisciplinar na Área da Saúde**, 2008. (Outra)
15. **Jornada de Refeições Coletivas UCS**, 2008. (Outra)
16. **Palestra do curso de Nutrição: Probióticos**, 2008. (Outra)
17. **Palestra do curso de Nutrição: Empreendedorismo em Nutrição**, 2008. (Outra)
18. **Palestra do curso de Nutrição: Fisiologia do Exercício**, 2008. (Outra)
19. **Palestra do curso de Nutrição: Personal Diet**, 2008. (Outra)
20. **Palestra do curso de Nutrição: Suplementos Esportivos**, 2007. (Outra)
21. **Palestra da História da alimentação e cozinha mediterrânea**, 2007. (Outra)
22. **Palestra do curso de Nutrição: Introdução de Alimentos - Obesidade Infantil**, 2007.

(Outra)

**23. II Semana Acadêmica do curso de Nutrição e I Jornada de Terapia Nutricional, 2007.**  
(Outra)

#### **Organização de evento**

**1. STEDILE, N.**

**Jornada de Nutrição Clínica da UCS, 2008.** (Outro, Organização de evento)

**2. STEDILE, N.**

**Jornada de Nutrição em Refeições Coletivas, 2008.** (Outro, Organização de evento)