

UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE – UNIVILLE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* SOBRE O PERFIL
BIOQUÍMICO E ESTRESSE OXIDATIVO EM CICLISTAS**

NATHÁLIA JAHN

JOINVILLE-SC

2022

NATHÁLIA JAHN

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *Pleurotus ostreatus* SOBRE O PERFIL
BIOQUÍMICO E ESTRESSE OXIDATIVO EM CICLISTAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Meio Ambiente, Mestrado em Saúde e Meio Ambiente, da Universidade da Região de Joinville-UNIVILLE, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, sob orientação da professora Dra. Daniela Delwing de Lima.

JOINVILLE

2022

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

J25e Jahn, Nathália
Efeitos da suplementação de *Pleurotus ostreatus* sobre o perfil bioquímico e estresse oxidativo em ciclistas / Nathália Jahn; orientador Dra. Daniela Delwing de Lima. – Joinville: UNIVILLE, 2022.

94 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de Joinville)

1. *Pleurotus ostreatus*. 2. Stress oxidativo. 3. Radicais livres (Química). 4. Ciclistas – Nutrição. I. Lima, Daniela Delwing de (orient.). II. Título.

CDD 613.71

Elaborada por Ana Paula Blaskovski Kuchnir – CRB-14/1401

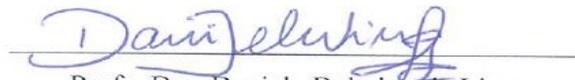
Termo de Aprovação

“Efeitos da Suplementação de *Pleurotus ostreatus* sobre o Perfil Bioquímico e Estresse Oxidativo em Ciclistas”

por

Nathália Jahn

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestra em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.



Profª. Dra. Daniela Delwing de Lima
Orientadora (UNIVILLE)



Prof. Dr. Luciano Lorenzi
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

Banca Examinadora:



Profª. Dra. Daniela Delwing de Lima
Orientadora (UNIVILLE)



Profª. Dra. Débora Delwing Dal Magro
(FURB)



Profª. Dra. Silmara Salette de Barros Silva Mastroeni
(UNIVILLE)

Joinville, 01 de abril de 2022

“Todo mundo deveria ser aplaudido de pé pelo menos uma vez na vida, porque todos nós vencemos o mundo”.

R. J. Palacio (Extraordinário)

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Daniela Delwing de Lima, por seu apoio e disponibilidade em participar desta jornada, contribuindo para o conhecimento.

De mesma forma, agradeço àquelas que tanto me incentivaram desde a graduação, para que o título de mestre se tornasse possível: às professoras Tânia Regina de Oliveira Rosa e Sandra Ana Czarnobay, meu eterno obrigada.

À família, agradecimento especial a minha mãe, Angela, por seus abraços de urso e conforto na forma de palavras, sem você, nada seria. A meus avós, Marcílio e Iraci, pelo zelo e compreensão nos momentos de ausência, por se fazerem incentivo e exemplo de persistência e progresso. Agradeço a Bruno, companheiro e apoio em momentos de incerteza e exaustão.

Agradeço à Larissa, minha orientadora para as práticas em laboratório, e a todas as demais colegas que contribuíram para a realização das análises necessárias à execução deste trabalho. Um obrigada também à minha colega de classe, Maria Emília, a quem tive a honra de conhecer na turma de mestrado, e colaborou para as coletas de dados.

Por fim, agradeço a todos os ciclistas que se dispuseram à participação deste projeto, e a todos que fizeram parte dessa jornada.

Obrigada.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Cogumelos são corpos de frutificação de fungos que possuem boa composição nutricional, além de propriedades funcionais, com potenciais efeitos antioxidante, anti-inflamatório, antiviral e hipoglicemiante, além de capacidade de redução de radicais livres (RLs) e do estresse oxidativo no organismo. Apesar dos benefícios advindos com a prática desportiva, o excesso de exercícios físicos pode levar à ocorrência de danos celulares e teciduais, maior acometimento de processos inflamatórios e imunossupressão. **OBJETIVOS:** Avaliar os efeitos da suplementação da dieta com *Pleurotus ostreatus* sobre indicadores bioquímicos e marcadores de estresse oxidativo em atletas de ciclismo da cidade de Joinville-SC, antes e após a suplementação, em comparação ao placebo. **MATERIAL E MÉTODOS:** Trata-se de um estudo de intervenção, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, com amostra selecionada por conveniência, realizado entre os meses de maio de 2021 e fevereiro de 2022, na cidade de Joinville - SC. Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade da Região de Joinville - Univille sob parecer número 4.493.190, foram recrutados homens de 18 a 60 anos, com treinos periódicos de pelo menos 5 horas na semana. No total, foram avaliados 19 participantes, sendo que 9 indivíduos consumiram suplemento, e 10 indivíduos consumiram placebo. Foram entregues as cápsulas (330 mg de *Pleurotus ostreatus* ou placebo) e orientações para administração do suplemento e coletas de sangue, e então os dados foram coletados. Questões acerca de dados antropométricos e aspectos de treinamento foram realizadas oralmente. As amostras foram coletadas após jejum de 12 horas na área de laboratórios do Centro Cirúrgico Experimental da Univille, antes e após 14 dias de suplementação. Os parâmetros de estresse oxidativo analisados foram substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), conteúdo total de sulfidrilas e de proteínas carboniladas e a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx) e do perfil bioquímico foram glicose, proteínas totais, albumina, colesterol total, HDL-C e LDL-C e triglicerídeos. Os resultados foram analisados pelo programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) e expressos como média e desvio padrão (+DP). Variáveis categóricas foram descritas na forma de média e intervalo de confiança de 95%, e o

teste de qui-quadrado ou exato de Fisher foi utilizado para fazer a comparação entre os grupos. Para a verificação de perfil bioquímico e parâmetros do estresse oxidativo, entre grupos e períodos antes-após a suplementação, Teste t de Student pareado bicaudal foi aplicado entre os grupos antes-depois. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. **RESULTADOS:** Os participantes possuíam idade média de 36 anos ($\pm 9,0$), 1,78 metros ($\pm 0,1$) e índice de massa corporal de $24,2 \text{ kg/m}^2$ ($\pm 2,9$). A maior parte dos ciclistas respondeu ter uma frequência semanal de 5-7 dias de treino ($n=12$, 63,1%), e um período de tempo entre 3 e 5 horas/dia ($n=14$, 73,6%). Quando avaliados indicadores bioquímicos, *Pleurotus ostreatus* apresentou efetividade no aumento dos níveis de albumina ($p=0,0401$) e HDL-C ($p=0,0093$) para o grupo intervenção. Parâmetros do estresse oxidativo demonstraram uma redução do conteúdo de proteínas carboniladas ($p=0,0401$) e elevação de todas as enzimas avaliadas: CAT ($p=0,0147$), GPx ($p=0,0212$), e SOD ($p=0,0201$), em participantes que consumiram cogumelos na forma de suplemento.

CONCLUSÃO: Os resultados sugerem que o consumo de *Pleurotus ostreatus* contribuiu para melhora do perfil lipídico e de parâmetros do estresse oxidativo em ciclistas. Mais estudos são necessários para que estes benefícios sejam confirmados, considerando demais variáveis.

Palavras-chave: *Pleurotus ostreatus*, Estresse Oxidativo, Radicais Livres, Suplementos Nutricionais, Exercício Físico.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Mushrooms are fungi that have good nutritional composition, in addition to functional properties with potential effects, including antioxidant, anti-inflammatory, antiviral and hypoglycemic, in addition to their ability to reduce free radicals (FR) and oxidative stress in the body. Despite the benefits sport practice, excessive physical exercise can lead to the occurrence of cellular and tissue damage, greater involvement on inflammatory processes and immunosuppression. **OBJECTIVES:** To analyze the effects of *Pleurotus ostreatus* mushroom extract supplementation on biochemical indicators and oxidative stress markers in cycling athletes from Joinville-SC, before and after supplementation, in comparison to placebo. **MATERIAL AND METHODS:** This is a descriptive, randomized, double-blind, placebo-controlled study, with a sample selected for convenience, carried from May 2021 to February 2022, in the city of Joinville - SC. After approved by the Univille University Research Ethics Committee under the CEUA protocol number 4.493.190, men from 18 to 60 years old were recruited, with periodic training for at least 5 hours a week. In total 19 participants were evaluated for 14 days, in which 9 men consumed the supplement and another 10 consumed placebo. Capsules (330 mg of *Pleurotus ostreatus* or placebo) and guidelines for supplement administration and blood collections were delivered. Questions about anthropometric and train aspects were asked orally. Samples were collected after fasting for 12 hours in the area of laboratories of the Univille Experimental Surgery Center, before and after 14 days of supplementation, and sent directly to evaluations. The oxidative stress parameters analyzed were thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS), total sulfhydryl and carbonyl protein content and the activity of the antioxidant enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) and biochemical profile were glucose, total proteins, albumin, total cholesterol, HDL-C, LDL-C and triglycerides. Results were analyzed by Statistical Package for Social Sciences (SPSS) program and expressed as mean and standard deviation (+SD). Categorical variables were described as mean and 95% confidence interval and the chi-square or Fisher's exact test was used to compare the groups. To verify the biochemical profile and parameters of oxidative stress, between groups and periods before-after supplementation, two-tailed paired Student's t test

was applied between groups before-after. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. **RESULTS:** Participants had a mean age of 36 years (± 9.0), 1.78 meters (± 0.1) and body index of 24.2 kg/m^2 (± 2.9). A mean number of cyclists answered to have a weekly frequency of 5-7 days train ($n=12$, 63.1%), in a period between 3 to 5 hours/day ($n=14$, 73.6%). When evaluated biochemical indicators, *Pleurotus ostreatus* presented its effectiveness in the increase of albumin ($p=0.0401$) and HDL-C ($p=0.0093$) levels in the intervention group. Oxidative stress parameters showed a reduction in the protein carbonyl content ($p=0.0401$) and increase in all antioxidant enzymes, CAT ($p=0.0147$), GPx ($p=0.0212$) and SOD ($p=0.0201$), in participants who consumed mushroom supplement.

CONCLUSION: Results suggest that the consumption of *Pleurotus ostreatus* improved lipidic profile and oxidative stress parameters in cyclists. More studies are needed in order to confirm its benefits considering different variables.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, Oxidative Stress, Free Radicals, Supplements, Exercise.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cogumelo-ostra (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	21
Figura 2: Sistema enzimático antioxidante.....	27
Figura 3: Desenho do estudo.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estimativa de produção das principais espécies de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil.....	15/16
---	-------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS: Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrameticromono-2-carboxílico

ATP: Trifosfato de adenosina

CAT: Catalase

CP: Carbonilação de proteínas

DTNB: Ácido ditionitrobenzóico

EGT: L-ergotioneína

ERN: Espécies reativas de nitrogênio

ERO: Espécies reativas de oxigênio

Fe³⁺: Ferro

GSH: Glutathiona

GPx: Glutathiona peroxidase

GSSG: Glutathiona dissulfeto

HDL-C: Lipoproteína de alta densidade

H₂O: Água

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

K₂S₂O₈: Persulfato de potássio

LDL-C: Lipoproteína de baixa densidade

LPO: Lipoperoxidação

MDA: Malondialdeído

NADPH: Fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida

NO: Óxido nítrico

O₂: Oxigênio

O₂^{•-}: Ânion superóxido

•OH: Hidroxila

RLs: Radicais livres

SOD: Superóxido dismutase

TBA: Ácido tiobarbitúrico

TBA-RS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TEAC: Capacidade antioxidante total equivalente ao trolox

VO₂máx: consumo de oxigênio máximo

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	80
APÊNDICE B - Orientações ao participante.....	84

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo geral.....	12
2.2 Objetivos específicos	12
3 REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1 Cogumelos	13
3.1.1 Classificação botânica e origem	13
3.1.2 Papel na economia mundial e brasileira	14
3.1.3 Aspectos nutricionais.....	16
3.1.4 Processamento térmico e composição nutricional dos cogumelos.....	17
3.1.5 Aplicação na prática de atividades físicas	18
3.1.6 O gênero <i>Pleurotus</i>	20
3.2 Estresse oxidativo	22
3.2.1 Estresse oxidativo no esporte.....	23
3.3 Sistemas antioxidantes	25
3.3.1 Sistema enzimático.....	25
3.3.2 Sistema não enzimático.....	27
3.4 Métodos de avaliação do estresse oxidativo	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1 Tipo de estudo	30
4.2 Indivíduos.....	30
4.3 Critérios de inclusão	31

4.4 Critérios de exclusão	31
4.5 Aspectos éticos	31
4.6 Randomização e mascaramento	33
4.7 Materiais	33
4.8 Obtenção do suplemento	33
4.9 Coleta de dados	34
4.10 Obtenção das amostras sanguíneas	35
4.11 Preparação das amostras	36
4.11.1 Preparação dos eritrócitos e do plasma	36
4.11.2 Preparação do soro	36
4.11.3 Parâmetros do estresse oxidativo.....	36
4.11.4 Análise do perfil bioquímico	39
4.12 Riscos/benefícios	40
4.13 Análise e processamento de dados	41
5 INTERDISCIPLINARIEDADE	42
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
6.1 Artigo: EFFECTS OF <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> SUPPLEMENTATION ON BIOCHEMICAL PROFILE AND OXIDATIVE STRESS IN CYCLISTS	43
7 CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS	65
APÊNDICES	80
APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido	81
APÊNDICE B - Orientações ao participante	84

1 INTRODUÇÃO

Cogumelos são fungos pertencentes ao reino *Fungi*, definidos por Shu-Ting Chang como “[...] macrofungos com corpos de frutificação característicos, grandes o suficiente para serem visíveis a olho nu e coletados com as mãos” (OBE; MSHIGENI, 2013). Tratam-se de seres pluricelulares, eucariontes, heterótrofos e saprófitos, que obtêm sua fonte de alimento a partir da digestão de matéria orgânica, contribuindo para a decomposição no meio ambiente (MARGULIS; SCHWARTZ, 2001; SANO *et al.*, 2004; SOCCOL *et al.*, 2017).

Os cogumelos possuem diferentes empregos e funções características, com seu consumo se elevando a nível global. Entre os principais tipos, encontram-se aqueles pertencentes ao gênero *Pleurotus* spp., cogumelos comestíveis, sensíveis e delicados, de fácil crescimento em diferentes condições climáticas (AGARWAL *et al.*, 2017; GONÇALVES *et al.*, 2017; TOLERA; ABERA, 2017).

A composição nutricional dos fungos contribui para um alimento de propriedades funcionais, entre as quais apresentam benefícios, como efeitos antioxidante, anti-inflamatório, antiviral, hipocolesterolemizante e hipoglicemizante, além de emprego em sabor e textura, proporcionando as mais diversas preparações culinárias (TOLERA; ABERA, 2017).

As propriedades existentes nos cogumelos podem contribuir para o consumo por indivíduos atletas, com redução da exaustão causada pelos treinos e competições, bem como maior habilidade de eliminação de radicais livres e aumento do pico de intensidade do exercício, contribuindo para o maior vigor no esporte (HIRSCH *et al.*, 2015).

A prática de exercícios físicos contribui para o combate a doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e bem-estar do organismo. Porém, quando realizados de forma exaustiva, alguns desses exercícios podem se configurar em um dos principais fatores para a ocorrência de danos celulares e teciduais, devido ao aumento da atividade metabólica e conseqüentes alterações bioquímicas e fisiológicas, como o aumento da produção de radicais livres e maior acometimento de processos inflamatórios e imunossupressão (PETRY *et al.*, 2013; PIEREZAN *et al.*, 2017).

Desta forma, considerando os potenciais benefícios dos cogumelos comestíveis na alimentação e prática de exercícios físicos, o presente estudo buscará responder à seguinte questão: As propriedades antioxidantes existentes em cogumelos do gênero *Pleurotus* spp. podem contribuir para a redução do estresse oxidativo e melhora do perfil bioquímico em ciclistas?

Além de demonstrar as possíveis ações dos cogumelos para a saúde e performance dos atletas avaliados, este trabalho tem sua relevância para a comunidade científica, fomentando novas pesquisas sobre o assunto, bem como sua aplicação em demais grupos populacionais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da suplementação de atletas praticantes de ciclismo da cidade de Joinville-SC com cogumelos *Pleurotus ostreatus* sobre indicadores bioquímicos e marcadores de estresse oxidativo.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar parâmetros de estresse oxidativo (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), conteúdo total de sulfidrilas e conteúdo total de proteínas carboniladas) no plasma de ciclistas que receberam suplementação com cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* (2g) ou placebo;
- Analisar a atividade de enzimas antioxidantes ((catalase – CAT, superóxido dismutase - SOD e glutathione peroxidase - GPx) em eritrócitos de ciclistas que receberam suplementação com cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* ou placebo;
- Determinar os indicadores bioquímicos séricos (proteínas totais, albumina, glicose, triglicérides, colesterol total, HDL-C e LDL-C), em ciclistas que receberam suplementação com cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* ou placebo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cogumelos

3.1.1 Classificação botânica e origem

Cogumelos são corpos de frutificação de fungos, pertencentes aos filos, *Ascomycetes* e *Basidiomycetes* (SANO *et al.*, 2004; SOCCOL *et al.*, 2017). Por possuírem estrutura simples, ou seja, desprovidos de folhas, raízes, caules, sementes e flores, foram inicialmente classificados como plantas inferiores, porém, a existência de peculiaridades e características distintas dos cogumelos levou à sua inserção em um reino que não o Vegetal ou Animal, mas a um reino próprio, o reino *Fungi* (OBE; MSHIGENI, 2013).

Estes fungos foram definidos por Shu-Ting Chang, cientista chinês, como “[...] macrofungos com corpos de frutificação característicos, grandes o suficiente para serem visíveis a olho nu e coletados com as mãos” (OBE; MSHIGENI, 2013). Trata-se de seres pluricelulares, eucariontes, heterótrofos e saprófitos, que obtém sua fonte de alimento a partir da digestão de matéria orgânica, contribuindo para a decomposição desta no meio ambiente (MARGULIS; SCHWARTZ, 2001; SANO *et al.*, 2004; SOCCOL *et al.*, 2017).

Apesar da formação de paredes celulares, estas não contêm clorofila, apenas quitina - semelhante ao esqueleto de insetos e outros artrópodes -, e sua respiração ocorre de forma semelhante à de animais, havendo a captação de oxigênio, com liberação de gás carbônico (CHANG; WASSER, 2017).

Além de possuir diferentes formas, cores e tamanhos, os cogumelos possuem uma gama de empregos e funções características (MIYAJI; CÓLUS, 2001). Estes fungos podem ser comestíveis e contribuir para a saúde por meio de suas propriedades medicinais, ou ainda levar a efeitos tóxicos, devido à produção de substâncias alucinógenas que, em alguns casos, podem ser letais (HIBBETT *et al.*, 2007; SOCCOL *et al.*, 2017).

Estudos demonstram que os cogumelos são participantes integrais da alimentação humana desde os primórdios, quando estes se tratavam de coletores e caçadores (RATHORE; PRASAD; SHARMA, 2017). Porém, como descrito por Bicalho *et al.* (2013), o consumo de cogumelos como alimento, na antiguidade, teve seus primeiros registros

por gregos e romanos. No entanto, sua oferta se limitava àqueles com maior poder aquisitivo, devido ao elevado valor e característica de luxuosidade, além da crença de que esse poderoso alimento seria fonte de imortalidade, um presente de Deus (EL SHEIKHA; HU, 2018).

Já no continente americano, civilizações localizadas no atual México, como os Astecas, possuíam o alimento em seu cardápio habitual, não tendo se disseminado através das rotas marítimas, como muitos produtos, e sim, pelos próprios moradores que habitavam esta região (Bicalho *et al.*, 2013).

No Brasil, a forte influência da colonização Portuguesa sobre o país, em que não havia o hábito do consumo dos fungos nas refeições, contribuiu para a baixa representatividade de cogumelos no país (ANPC, 2018). No entanto, relatos apontam que grupos indígenas na Amazônia eram consumidores de uma grande variedade de cogumelos (ANPC, 2018).

Atualmente, a relevância deste alimento permeia não só os campos da nutrição e alimentação, como também os da indústria farmacêutica, devido a seu potencial como fonte de substâncias benéficas ao organismo, que poderiam contribuir para a formulação de produtos nutracêuticos, farmacológicos e cosméticos (RATHORE; PRASAD; SHARMA, 2017).

3.1.2 Papel na economia mundial e brasileira

O consumo de cogumelos vem aumentando desde a década de 1990, e estima-se que a atual quantidade ingerida seja de 4 kg/ano de cogumelos por indivíduo (RONCERO-RAMOS *et al.*, 2017). A China é o país de maior produção desses fungos, possuindo os gêneros *Agaricus* e *Pleurotus* como os mais cultivados no mundo (ROYSE, 2014).

No ano de 2017, o mercado mundial de cogumelos movimentou cerca de 38 bilhões de dólares, e especialistas projetam um aumento de 7,9% do setor até o ano de 2026 (WOOD, 2018).

O aumento na busca por produtos capazes de substituir alimentos de origem animal, como as carnes, e ainda, potenciais benefícios e presença de nutrientes nos

cogumelos, têm contribuído para a maior demanda do produto. Porém, aspectos como o tempo de cultivo e o fato de serem alimentos altamente perecíveis, levam a indústria à procura de aplicações tecnológicas que visem suprir essas demandas (WOOD, 2018).

Segundo a Associação Nacional de Produtores de Cogumelos (ANPC, 2018), no atual cenário, o cultivo de cogumelos no Brasil está distribuído em diversas regiões do país. São Paulo e Paraná concentram as maiores produções, também existentes em outros estados em menores escalas, como Minas Gerais, Rio de Janeiro, sul da Bahia, Pernambuco, Brasília e Rio Grande do Sul (ANPC, 2018).

Não existem estimativas exatas para o setor em nível nacional, porém, como aponta a Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (2019), apenas no estado, 93 dos municípios paulistas produzem cerca de 12 mil toneladas de cogumelos ao ano, contando com aproximados 505 produtores na região (SÃO PAULO, 2019).

De acordo com o órgão, o aumento do interesse por restaurantes japoneses e a cozinha asiática levou ao crescimento da procura de cogumelos no país, além da criação de uma Câmara Setorial de Fungicultura no maior estado produtor desses fungos, o que contribuiu para o reconhecimento da classe enquanto atividade econômica (SÃO PAULO, 2019).

Atualmente, como descrito por Sebrae (2018) e Machado (2019), entre as principais espécies cultivadas no país, encontram-se: *Agaricus bisporus* (Champignon de Paris), *Lentinula edodes* (Shiitake) e as espécies do gênero *Pleurotus*, em especial *Pleurotus ostreatus* (Shiimeji-Brasil ou Hiratake) (Tabela 1).

Tabela 1: Estimativa de produção das principais espécies de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil.

Espécies de cogumelos cultivadas no Brasil	Produção estimada (toneladas/ano)
<i>Agaricus bisporus</i> (Champignon de Paris)	8.000
<i>Pleurotus</i> spp.	2.000
<i>Lentinula edodes</i> (Shiitake)	1.500
<i>Agaricus blazei</i> (Murril)	500

Fonte: (SEBRAE, 2018, adaptado por MACHADO, 2019).

3.1.3 Aspectos nutricionais

Além de proporcionar sabor e textura às preparações, os cogumelos possuem uma gama de nutrientes, como polissacarídeos, proteínas, minerais e fibras, baixo teor calórico, além de apresentar propriedades funcionais, sendo caracterizado como agente antioxidante, devido à presença de compostos fenólicos, tocoferóis, ácido ascórbico e carotenoides (SOCCOL *et al.*, 2017; RICARDO *et al.*, 2017).

Cogumelos do gênero *Pleurotus* possuem em sua formação 80-90% de água, com elevado teor de umidade e atividade da água, característica que contribui para a menor durabilidade e tempo de prateleira, possibilitando a ação de microrganismos na degradação do alimento (JO *et al.*, 2018).

Os cogumelos apresentam cerca de 50-65% de seu conteúdo formado por carboidratos, em que se incluem mono e oligossacarídeos, além de alguma quantidade de açúcares alcoólicos, como manitol e trealose. Seu baixo teor lipídico, formado, em especial, por gorduras do tipo monoinsaturadas, e ainda, a ausência de colesterol, contribuem para menores riscos da formação de placas de aterosclerose e doenças cardiovasculares (RATHORE; PRASAD; SHARMA, 2017).

Há também elevada quantidade de fibras, como: quitina, hemicelulose, α -glucanas, mananas, galactanas e xilanas, e em especial, β -glucanas, polissacarídeo que age como prebiótico, e tem demonstrado efeitos positivos para a saúde humana, como imunoestimulante natural no aumento da resistência a alergias, atuando sobre o metabolismo de açúcares e gorduras, e no tratamento de certos tipos de câncer (RONCERO-RAMOS *et al.*, 2016; CARRASCO-GONZÁLEZ; SERNA-SALDÍVAR; GUTIÉRREZ-URIBE, 2017).

O uso das β -glucanas, além de demonstrar benefícios à saúde humana, vem atraindo a atenção da indústria alimentícia, por apresentar características espessante, emulsificante, aglutinadora de gorduras e retentora de água (SERNA-SALDÍVAR; GUTIÉRREZ-URIBE, 2017).

Nos fungos também estão presentes todos os aminoácidos essenciais de que o organismo necessita, propriedade que os difere de produtos de origem vegetal, em que um ou mais desses aminoácidos se encontra limitado, como lisina e metionina, por exemplo. Esta característica contribui para sua existência em dietas vegetarianas, em que as proteínas derivam exclusiva ou majoritariamente de fontes vegetais (CONDÉ; DE OLIVEIRA; DE OLIVEIRA, 2017; SANTOS, 2019).

Um estudo elaborado pela *The Pennsylvania State University* (KALARAS *et al.*, 2017), mostrou que os cogumelos podem se constituir em ricas fontes de componentes essenciais para a saúde humana, como: minerais - potássio, fósforo, magnésio, cálcio, cobre, ferro, zinco, selênio e manganês -, vitaminas C, D e E, glutatona e L-ergotioneína (EGT).

As vitaminas e minerais presentes no alimento contribuem para uma série de benefícios, envolvendo a maior qualidade de vida, redução de doenças como a osteoporose, diabetes e aumento do sistema imune, entre outros (CARRASCO-GONZÁLEZ; SERNA-SALDÍVAR; GUTIÉRREZ-URIBE, 2017). Ainda, segundo Beelman, Kalaras e Richie (2019), EGT se trata de um aminoácido de capacidade antioxidante, não sintetizado pelo organismo, que vem demonstrando benefícios quanto a sua atividade anti-inflamatória e antioxidante (WEIGAND-HELLER; KRIS-ETHERTON; BEELMAN, 2012; HALLIWELL; CHEAH; DRUM, 2016).

3.1.4 Processamento térmico e composição nutricional dos cogumelos

Cogumelos comestíveis podem ter aplicações gastronômicas em diversas formas, sendo utilizados crus, secos, cozidos e em conservas (MATOS *et al.*, 2015). Porém, a forma de preparo não apenas emprega sabor aos pratos em que o alimento é adicionado, podendo também causar mudanças quanto à disposição de nutrientes presentes no fungo, contribuindo para a perda de vitaminas e outros compostos antioxidantes. Por este motivo, atenção especial deve ser dada para a forma de preparação, a fim de obter o máximo de aproveitamento do alimento (FALLER; FIALHO, 2009).

Roncero-Ramos *et al.* (2016) verificaram o efeito de diferentes métodos culinários (cocção, em micro-ondas, grelha e fritura) sobre a composição e capacidade antioxidante

de diferentes espécies de cogumelos. A fritura afetou de forma mais significativa as características dos fungos, reduzindo o teor de carboidratos e cinzas, porém, levando ao aumento do teor de gorduras e energia (RONCERO-RAMOS *et al.*, 2016).

O mesmo estudo ainda demonstrou elevação da quantidade total de glucanas com a cocção, e redução da capacidade antioxidante com a aplicação desse e da fritura, enquanto houve aumento dessa capacidade quando os alimentos foram dispostos em micro-ondas ou grelhados (RONCERO-RAMOS *et al.*, 2016).

A secagem é outro dos métodos empregados aos cogumelos, a fim de garantir características como o sabor e aumento do tempo de prateleira do produto. Em 2013, Aishan e Rosli (2013), realizaram um estudo avaliando os efeitos de três processos - aquecimento com ar quente de baixa intensidade, secagem ao sol e em forno a gás -, em que o primeiro demonstrou maior efetividade sobre a redução da atividade da água, porém, menor preservação do teor de fibras e β -glucanas (AISHAN; ROSLI, 2013).

Os estudos citados contribuem para o conhecimento acerca da necessidade de escolha das técnicas culinárias empregadas no preparo de alimentos, buscando alternativas que contribuam tanto para a disponibilidade dos produtos e seu tempo de conservação no comércio, como para a maior garantia de aproveitamento dos nutrientes e potenciais benefícios proporcionados pelos cogumelos (MARAY; MOSTAFA; EL-FAKHRANY, 2017).

3.1.5 Aplicação na prática de atividades físicas

O bom desempenho na prática de exercícios físicos e esportes é dependente de uma série de fatores, entre os quais uma alimentação de qualidade, com inclusão dos nutrientes necessários para a manutenção e maior resistência do organismo, e possibilidade de ação contra patologias infecciosas ou condições de imunossupressão (VP, 2019).

Atualmente, suplementos dietéticos têm surgido em busca de contribuir para a redução de efeitos deletérios de uma rotina de treinamentos intensos. Porém, deve-se haver cautela quanto à escolha e necessidade dos mesmos, atentando-se para as alegações de benefícios de diferentes compostos, e buscando conhecimento fidedigno,

a fim de conhecer os públicos a que esses efeitos se destinam, e assim garantir a possibilidade de melhores resultados (WALSH *et al.*, 2011).

No ano de 2014, Rossi *et al.* (2014), realizaram uma investigação sobre os efeitos da suplementação a partir de duas espécies de cogumelos comestíveis (*Ganoderma lucidum* e *Ophiocordyceps sinensis*), em ciclistas amadores, por um período de 3 meses. Os autores concluíram haver a maior proteção às condições de *overreaching* e/ou *overtraining*, termos destinados à redução da performance desportiva devido ao excesso de treinos, a curto e longo prazos, respectivamente. Ainda, a habilidade de eliminação de radicais livres (RLs) foi elevada após a suplementação, demonstrando efeito protetor sobre o estresse oxidativo (ROSSI *et al.*, 2014).

Hirsch *et al.* (2015), avaliaram a administração de suplemento de cogumelos *Cordyceps militaris* no pré-treino de indivíduos, por um período de 14 dias. Os resultados demonstraram haver melhora do volume de oxigênio máximo ($VO_{2máx}$), aumento do tempo para a exaustão, e ainda, aumento do pico de intensidade do exercício, contribuindo para o maior vigor no esporte (HIRSCH *et al.*, 2015).

Entre os potenciais benefícios do consumo de cogumelos associados à prática de atividades físicas, encontram-se elementos químicos, como minerais, vitaminas e outras substâncias, em que se incluem: cromo, vitamina D e β -glucanas (CARRASCO-GONZÁLEZ; SERNA-SALDÍVAR; GUTIÉRREZ-URIBE, 2017; SOCCOL *et al.*, 2017; RICARDO *et al.*, 2017).

O cromo é um mineral de suma importância para a execução de diversas ações no organismo, entre elas, captação de glicose e aminoácidos pelas células, aumento de lipoproteínas de alta densidade (HDL-c) e redução do colesterol total e de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c) (PANSANI, 2017).

Os possíveis mecanismos de contribuição do mineral na prática desportiva se devem ao auxílio na sinalização da insulina e aumento da captação de glicose muscular, ofertando maior aporte energético, em contrapartida, inibindo a fadiga e queda precoce do rendimento em exercícios de alta intensidade (FALCÃO, 2016; JERONIMO *et al.*, 2018).

Cogumelos expostos à radiação solar ou lâmpadas UV podem apresentar quantidades significativas de vitamina D₂, também conhecida como ergosterol, mesmo após a estocagem e cocção, processos que levam à redução desta vitamina nos alimentos (CARDWELL *et al.*, 2018).

Como pontuam Dos Santos e Costa (2018), os benefícios da vitamina D se constituem em melhora do condicionamento físico, com aumento da função muscular, em que a presença de receptores no músculo esquelético pode indicar sua participação em diversos processos das células musculares, como o crescimento e inflamação (DE MENEZES *et al.*, 2018).

A redução da pressão arterial também pode ser afetada pela presença de vitamina D, além de potencializar a absorção de cálcio no organismo, mineral que se encontra predominantemente nos ossos, e que, quando ingerido de forma insuficiente, pode ocasionar a queda da densidade mineral óssea, levando o atleta ao maior risco de fraturas (MAEDA *et al.*, 2014).

A alteração imunológica decorrida da prática de esportes intensos e prolongados é outro ponto de necessária atenção, pois contribui para o aumento do risco de infecções ocorridas no trato respiratório superior. Substâncias conhecidas por seu efeito imunomodulador, como as β -glucanas, se constituem em um grupo de diversas moléculas, com variações em suas estruturas, solubilidade, viscosidade, peso molecular e atividade biológica, e podem contribuir para a maior resistência do organismo contra a ação de patógenos (MAJTAN, 2013).

3.1.6 O gênero *Pleurotus*

Entre os cogumelos de maior destaque na indústria, encontram-se os do gênero *Pleurotus* spp., que ocupam a segunda colocação quanto à produção, em nível mundial e nacional, e têm seu destaque como produtos alimentícios, compreendendo mais de 40 espécies (INÁCIO *et al.*, 2015; CONDÉ; DE OLIVEIRA; DE OLIVEIRA, 2017; ANPC, 2018).

Tratam-se de cogumelos sensíveis e delicados, que têm seu tempo de vida limitado a alguns dias após a colheita, devido à ausência de proteção externa, o que

contribui para ataques físico-químicos e microbiológicos, levando à necessidade de aplicações tecnológicas, como a secagem, para o aumento do tempo de prateleira (TOLERA; ABERA, 2017).

Estes cogumelos são conhecidos pela facilidade de crescimento em uma grande variedade de resíduos lignocelulósicos, em que liberam enzimas para a degradação da matéria, fornecendo substratos para o desenvolvimento dos fungos, que pode ocorrer em diversas condições climáticas, devido à sua diversidade genética ocorrida ao longo do tempo (AGARWAL *et al.*, 2017; GONÇALVES *et al.*, 2017).

Entre os principais cogumelos deste gênero, encontra-se o *Pleurotus ostreatus*, ou cogumelo-ostra, também conhecido como Hiratake ou Shiimeji-Brasil, sendo um dos mais cultivados no mundo (Figura 1) (ABREU *et al.*, 2007).

Este cogumelo é classificado como fungo da podridão branca da madeira, devido à presença de enzimas degradantes de estruturas fibrosas presentes em resíduos diversos, como palhas, bagaços e serragens, entre outros (ABREU *et al.*, 2007; SILVEIRA, 2015).

Figura 1: Cogumelo-ostra (*Pleurotus ostreatus*).



Fonte: VIEIRA; GONÇALVES; MARQUES (2014).

Potenciais efeitos nutracêuticos e farmacológicos vêm sendo atribuídos aos cogumelos do gênero *Pleurotus*, incluindo: atividade hipolipidêmica, antiaterosclerótica,

hipocolesterolêmica e diurética, imunomoduladora, antioxidante, hepatoprotetora, antiparasitária, anti-inflamatória, antidiabética e moduladora da produção de hormônios (INÁCIO *et al.*, 2015; AGARWAL *et al.*, 2017; PAZZA *et al.*, 2019).

A gama de benefícios atribuídos aos fungos se deve a sua composição nutricional, em que o mesmo apresenta substâncias de importância ao organismo, contribuindo para formação de um alimento de propriedades funcionais (AGARWAL *et al.*, 2017).

Além de apresentar baixo teor de lipídios, apresentam boa concentração de ácidos graxos insaturados, aminoácidos essenciais e carboidratos complexos, que contribuem para a melhora do quadro bioquímico, estão presentes também fibras e uma gama de micronutrientes (vitaminas, minerais e outros compostos bioativos), cruciais para os efeitos nutracêuticos e farmacológicos citados (RATHORE; PRASAD; SHARMA, 2017).

Em relação aos principais micronutrientes encontrados no *Pleurotus*, pode-se destacar: fósforo, potássio, ergosterol (precursor da vitamina D2), compostos fenólicos, tocoferóis, ácido ascórbico e carotenoides (DA SILVA; NEUZA, 2011)

No entanto, os efeitos benéficos do alimento podem depender da quantidade ingerida pelo indivíduo. Com isto, apesar do elevado valor nutricional que compõe os cogumelos, o elevado teor de umidade faz com que esses possuam uma menor quantidade de nutrientes em determinada porção do alimento, como descrevem Helm, Coradin e Kestring (2009), necessitando de maiores volumes e uma maior variedade na alimentação para que sejam atingidas as recomendações diárias estabelecidas.

3.2 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é definido pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN), e as defesas antioxidantes (BARBOSA *et al.*, 2010). Também conhecidas como radicais livres (RLs), as ERO e ERN são átomos ou moléculas altamente reativos e instáveis, interagindo com demais estruturas, em busca de sua estabilidade, adquirida através do número ímpar de elétrons na última camada de valência, que se encontram desemparelhados (FILIPPIN *et al.*, 2008; BRIEGER *et al.*, 2012).

Em proporções adequadas, os RLs atuam como mediadores para a transferência de elétrons em reações químicas, sendo responsáveis pela geração de energia (trifosfato de adenosina - ATP), fertilização dos óvulos, ativação de genes, além de atuar como contribuintes para a defesa do organismo durante processos infecciosos (BARBOSA *et al.*, 2010).

Porém, em condições exacerbadas, o aumento de RLs leva à propagação do estresse oxidativo, que gera um desequilíbrio homeostático, contribuindo para a lesão de células normais, amplificada na presença de moléculas de carboidratos, lipídios, proteínas, bem como DNA ou proteoglicanos (PIEREZAN *et al.*, 2017).

A lesão celular ocorre devido à elevada reatividade de RLs, em que se encaixam o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o radical hidroxila (OH^{\bullet}), e o óxido nítrico (NO^{\bullet}), moléculas que possuem um elétron não pareado em sua última camada, ligando-se a estruturas, como a parede celular, e ocasionando sua desestruturação (PEDROSO; VICENZI; ZANETTE, 2015).

A oxidação de proteínas e fosfolipídios da membrana, conhecidos como carbonilação proteica (CP) e peroxidação lipídica (ou lipoperoxidação – LPO), respectivamente, geram alterações no balanço hídrico da célula e oxidação de componentes celulares, entre os quais, incluem-se cofatores enzimáticos, compostos tóxicos, nucleotídeos e o próprio DNA, e podem alterar de forma significativa a integridade celular (FILAIRE *et al.*, 2011; FOGARTY *et al.*, 2011; PETRY *et al.* 2013).

As consequências do dano oxidativo se acumulam ao longo da vida, e, como apontam Halliwell e Gutteridge (2018), este acúmulo pode ser associado ao desenvolvimento de uma série de doenças, como câncer, arteriosclerose, artrite, neurodegeneração, desordens psicológicas, entre outras patologias e distúrbios (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; LIGUORI *et al.*, 2018).

3.2.1 Estresse oxidativo no esporte

A prática de exercícios físicos contribui para o combate a doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) - tais como resistência à insulina e injúrias relacionadas a eventos cardiovasculares, e auxilia na maior resistência e bem-estar do organismo. Porém,

quando realizados de forma exaustiva, esses exercícios podem se configurar em um dos principais fatores para a ocorrência de danos celulares e teciduais, devido ao aumento da atividade metabólica e consequentes alterações bioquímicas e fisiológicas (PETRY *et al.*, 2013; PIEREZAN *et al.*, 2017).

A duração e a intensidade da prática desportiva realizada estão diretamente relacionadas ao aumento dos RLs. Exercícios que exigem um grande número de repetições de movimentos, com intensidade submáxima de um amplo grupo muscular e por tempo prolongado, também chamados de exercícios de *endurance*, levam ao aumento do consumo de oxigênio, e, em consequência, aumento do estresse oxidativo, sendo as mitocôndrias as principais produtoras de RLs, por meio da cadeia transportadora de elétrons (DA SILVA; CHAVES, 2015; PEDROSO; VICENZI; ZANETTE, 2015).

Sejam em treinamentos ou competições, a prática de exercícios extenuantes gera o aumento da produção de ERO, da fadiga e fraqueza muscular, devido à redução dos níveis de antioxidantes no organismo, contribuindo para a lesão de estruturas (DOS SANTOS, 2012).

O aumento do estresse oxidativo pode acarretar uma maior susceptibilidade a processos inflamatórios e imunossupressão dos atletas, condições de vulnerabilidade e risco de acometimento de doenças, devido a alterações em diversos parâmetros da função imunológica, incluindo a função de células de defesa e elevada secreção de marcadores inflamatórios, com potencial prejuízo à rotina de treinos e competições dos desportistas (ROMANO; BORGES, 2007).

Além disto, como aponta o Centro de Nutrição Funcional (VP, 2019), o aumento da carga de treinamentos sem o período de descanso e recuperação adequados, pode levar o atleta às condições de *overreaching* e *overtraining*, as quais se caracterizam por perda no rendimento físico a curto e longo prazos, respectivamente, devido ao estresse aos quais os indivíduos são submetidos (VP, 2019).

Contudo, apesar das afirmativas acerca dos efeitos deletérios do estresse oxidativo no esporte, estudos recentes vêm demonstrando benefícios com pequena presença de RLs induzidos pelo exercício, em que os mesmos ativarão sinais para o metabolismo energético e anabolismo proteico, conduzindo o organismo a uma resposta

adaptativa, com menor geração de fadiga e aumento da força muscular (DATTA; GABCHI, 2019).

Pesquisas realizadas com animais e humanos demonstraram haver o aumento da VO₂máx em testes de resistência, e redução de parâmetros relacionados à fadiga em exercícios com bicicleta, com efeitos também sobre o aumento do consumo de lipídios (DANESHVAR *et al.*, 2013; AOI *et al.*, 2015; COOK *et al.*, 2015; STRAUSS; WILLEMS; SHEPHERD, 2018).

No entanto, os resultados acerca da adaptação ao esporte necessitam de mais estudos, a fim de determinar até que ponto pode-se condicionar o atleta aos efeitos do estresse oxidativo, considerando as individualidades bioquímicas e adaptativas de cada um, e ainda, contribuir para o melhor rendimento, com redução da fadiga, bem como dos potenciais efeitos negativos do excesso de RLs no organismo (DA SILVA; MACEDO, 2011; GUIMARÃES, VIANNA, 2013).

3.3 Sistemas antioxidantes

Todas as células possuem mecanismos de defesa contra a ação do estresse oxidativo e de efeitos desencadeados por ERO, sendo conhecido como sistema de defesa antioxidante, dividido entre enzimático e não enzimático. Sua ação se dá de forma direta ou indireta, na neutralização, ou participação de sistemas enzimáticos com essa função, além da capacidade de contribuição para a ação de reparos, através da reconstituição das estruturas biológicas lesadas (BARBOSA *et al.*, 2010).

Entre o sistema de defesa enzimático, se encontram as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), enquanto o sistema não enzimático abrange compostos sintetizados pelo organismo, como: bilirrubina, ceruloplasmina, ácido úrico, melatonina, sulfidrilas e hormônios sexuais, além de outras substâncias provindas da alimentação ou suplementação, entre as quais: vitaminas C e E, β-caroteno e flavonoides (PEDROSO; VICENZI; ZANETTE, 2015).

3.3.1 Sistema enzimático

Para evitar o acúmulo de radicais $O_2^{\bullet-}$ e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o sistema enzimático é o primeiro a atuar, de forma a acelerar processos que já ocorreriam normalmente no organismo, porém, em uma velocidade muito menor (Figura 2) (ONDEI, L. S.; TERESA, F. B.; BONINI-DOMINGOS, 2014; PEDROSO; VICENZI; ZANETTE, 2015).

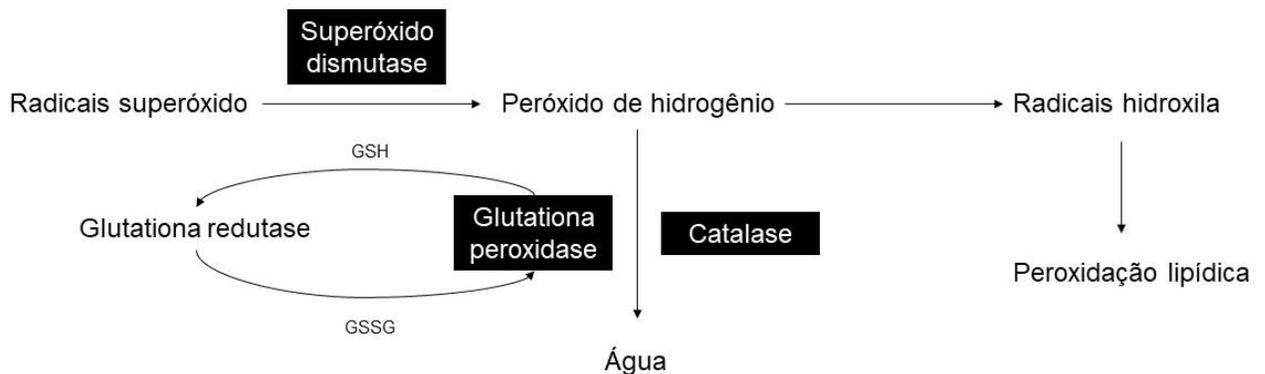
As SOD são enzimas que possuem meia vida curta (inferior a 10 minutos), e atuam na transformação de dois ânions radicais $O_2^{\bullet-}$ em um H_2O_2 , sendo considerada a linha de frente na defesa antioxidante presente no organismo (FUKAI; USHIO-FUKAI, 2011).

Estas enzimas podem ser encontradas em diferentes compartimentos, incluindo: o citoplasma (SOD1), sendo dependente dos minerais cobre e zinco; a mitocôndria celular (SOD2), em que se faz necessária a presença de manganês; e também a matriz extracelular e a superfície celular (SOD3) (FUKAI; USHIO-FUKAI, 2011). O H_2O_2 resultante da dismutação do radical $O_2^{\bullet-}$ é removido por dois tipos de enzimas, a CAT e a GPx (Figura 2) (BARBOSA *et al.*, 2010).

A CAT, por sua vez, é uma proteína que contém um grupo heme e uma molécula de NADPH por subunidade, e realiza a degradação do H_2O_2 em água (H_2O) e oxigênio (O_2). Sua ação envolve ligação com o ferro (Fe^{3+}). Esta enzima se localiza nos peroxissomos (bolsas membranosas no citoplasma de células), e pode também se fazer presente nas mitocôndrias cardíacas e hepáticas (figura 2) (KIRKMAN; GAETANI, 2007; VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

Localizada na matriz celular e no citosol, a GPx atua, principalmente, no fígado e em eritrócitos, podendo também ocorrer no coração, em pulmões e músculos. Sua ação se dá na redução do H_2O_2 , bem como de hidropeptídeos orgânicos, utilizando para isto um co-substrato, glutathiona (GSH), tripeptídeo formado por ácido λ -glutâmico, cisteína e glicina. A transferência de dois átomos de hidrogênio aos peróxidos transforma-os em álcool e/ou água, o que resulta em glutathiona dissulfeto (GSSG), necessitando da enzima glutathiona redutase para redução da glutathiona (Figura 2) (LAWLER; POWERS; CRISWELL, 1993; LAWLER; DEMAREE, 2001).

Figura 2 - Sistema enzimático antioxidante



Fonte: BASU; TEMPLE; GARG (1999).

3.3.2 Sistema não enzimático

Em busca da contribuição para a redução dos efeitos deletérios ocasionados por exercícios de exaustão e aumento do estresse oxidativo, diferentes estudos vêm relatando os efeitos de alimentos e nutrientes como potenciais agentes antioxidantes para o organismo, em que o adequado aporte nutricional se faz necessário (GONÇALVES, 2014).

Grupamentos sulfidríla são considerados os maiores e mais frequentes antioxidantes no plasma (NETO, SIVIERO, PADOVANI, 2016). Tratam-se de compostos que possuem ligação entre um átomo de enxofre e hidrogênio, possuindo estabilidade devido a sua configuração eletrônica na camada externa, fator de importância para a estrutura de proteínas, com capacidade de formar pontes dissulfeto em aminoácidos sulfurados (TRZESNIAK, 2002).

As vitaminas C e E encontram-se entre os principais antioxidantes estudados, nutrientes com potenciais benefícios empregados sobre a neutralização de RLs, redução na incidência de resfriados e outras injúrias ligadas ao trato respiratório em atletas submetidos a bruscas variações de temperatura (WALSH, 2019).

Por outro lado, a administração de antioxidantes em exercícios moderados atua como supressor dos benefícios ocasionados, como o aumento da regulação da capacidade antioxidante e adaptação ao exercício. Com o processo de adaptação ao

treinamento, os produtos do dano oxidativo são reduzidos, confirmando a hipótese de alguns pesquisadores de que a suplementação de antioxidantes não seria necessária para atenuação do estresse oxidativo no exercício (BARBOSA *et al.*, 2010).

Potenciais contribuições e as quantidades a serem administradas a diferentes pessoas, devem considerar uma série de fatores, como: gênero, características individuais, e ainda a forma de ingestão dos antioxidantes, pois podem interferir sobre a efetividade dos mesmos (PEDROSO; VICENZI; ZANETTE, 2015).

Desta forma, é necessário averiguar o tipo de exercício e as respostas pró e antioxidante, a fim de compreender sua função em esportistas (DATTA; BAGCHI, 2019). Como coloca Gonçalves (2014), Guest *et al.* (2019), primeiramente o conhecimento acerca das necessidades individuais e deficiências nutricionais deve ser obtido, pois não só a suplementação de forma incorreta, como também a ingestão insuficiente e carência de nutrientes pode impactar significativamente a prática de esportes, na qual indivíduos poderiam se beneficiar da adição de complementos nutricionais (GONÇALVES, 2014; GUEST *et al.*, 2019).

3.4 Métodos de avaliação do estresse oxidativo

Não existem ainda índices próprios e diretos para a avaliação do estresse oxidativo, principalmente, devido à curta meia vida e rápida reatividade de RLs a componentes reguladores da oxidação (FILIPPOVA; DUERKSEN-HUGHES, 2018).

Desta forma, sua mensuração ocorre através de produtos resultantes da interação entre RLs e demais componentes do organismo, podendo ser verificados: peroxidação lipídica, dano a proteínas e DNA, bem como alterações em enzimas, incluindo CAT, SOD e GPx e mecanismos antioxidantes (PRYOR, 1986; SCHNEIDER *et al.*, 2009; YOUSSEF; SALEM, 2019).

A peroxidação lipídica, devido à elevada possibilidade de oxidação de lipídios, se mostra como um marcador sensível para a avaliação do estresse oxidativo, possuindo, entre as técnicas utilizadas, o TBA-RS, ensaio com substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (ATB) (CHENG *et al.*, 2017).

Neste método, que pode ser realizado no plasma, soro, na urina ou em diferentes tecidos dos avaliados, consiste na avaliação da presença de malondialdeído, último produto da oxidação de moléculas de lipídios, que reage com o ATB, em pH baixo e temperatura elevada, para formar um complexo com absorção máxima em 535 nm, quando avaliado em espectrofotômetro, sendo considerados normais valores de até 440 ng/mL (MIHARA; UCHIYAA, 1978; PERCÁRIO, 2010; MACHADO, 2019).

A maior parte das proteínas plasmáticas contém resíduos de cisteína em sua estrutura, e essa, por sua vez, grupamentos sulfidríla, que podem ser facilmente oxidados por EROs (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Combinada a ela, a detecção de proteínas carboniladas, indicadora global de estresse oxidativo celular, pode evidenciar a oxidação proteica, contribuindo para o fornecimento de uma relação entre o estresse oxidativo e a capacidade antioxidante do indivíduo avaliado (LEVINE *et al.*, 1990).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo de intervenção, do tipo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, com amostra selecionada por conveniência, realizado entre os meses de maio de 2021 e fevereiro de 2022, na cidade de Joinville - SC.

4.2 Participantes

O estudo ocorreu entre indivíduos do sexo masculino, com idades de 18 a 60 anos, praticantes de ciclismo há seis meses ou mais, residentes na cidade de Joinville-SC, e que se dispuseram a participar da pesquisa ao verificar o anúncio realizado em redes sociais (Instagram® e Whatsapp®) e grupos de ciclismo existentes no município. Para a população-alvo, foi obtido o valor de 26 atletas - com base no número total de indivíduos cadastrados na Federação Catarinense de Ciclismo (FCC, 2020), na modalidade ciclismo de estrada, considerando a representatividade de participantes da cidade de Joinville, havendo como margem de erro amostral 5%:

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 \cdot p \cdot q}{E^2}$$

Em que:

n = Número de indivíduos na amostra;

$Z_{\alpha/2}$ = Valor crítico que corresponde ao grau de confiança desejado;

p = Proporção populacional de indivíduos que pertence a categoria que se pretende avaliar;

q = Proporção populacional de indivíduos que não pertence à categoria que se pretende avaliar ($q = 1 - p$);

E = Margem de erro ou erro máximo de estimativa. Identifica a diferença máxima entre a proporção amostral e a verdadeira proporção populacional (p) (LEVINE; BERENSON; STEPHAN, 2000).

4.3 Critérios de inclusão

Nos critérios de inclusão se encontraram atletas do sexo masculino, que possuíam idades entre 18 e 60 anos, e que realizavam treinos periódicos por pelo menos trezentos minutos, ou 5 horas por semana, num período mínimo de seis meses. Ainda, foram incluídos os participantes que assinaram corretamente o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), bem como realizaram a suplementação conforme as orientações repassadas, e que participaram de todas as coletas sanguíneas propostas.

4.4 Critérios de exclusão

Nos critérios de exclusão, encontraram-se todos os participantes que, após o aceite para a realização da pesquisa, se recusaram a fazer uso do suplemento, apresentaram alguma reação adversa com seu consumo, ou, ainda, que possuíam algum histórico de condição médica. Ainda, foram excluídos os indivíduos em uso de medicação capaz de levar a alguma alteração do metabolismo, ou que possuíam alguma condição crônica que limitasse a aplicação do estudo.

4.5 Aspectos éticos

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE, seguindo todos os parâmetros descritos na resolução 466/2012 (BRASIL, 2012), e foi aprovado sob parecer número 4.493.190.

Ressalta-se que o presente estudo não possuiu financiamento de qualquer empresa do ramo farmacêutico, sendo as despesas financiadas pelo Fundo de Apoio à Pesquisa da UNIVILLE e pela pesquisadora responsável.

Após a anuência do CEP, e no período destinado para realização das análises, ocorreu agendamento por meio de redes sociais (Instagram® e/ou Whatsapp®), junto aos participantes interessados, para realização das coletas de sangue e entrega de

material (cápsulas e TCLE). Ainda, os indivíduos foram instruídos quanto aos critérios estabelecidos para as coletas sanguíneas (detalhamento a seguir).

Na data e local programados, antecipando a coleta de dados, os participantes foram esclarecidos acerca dos objetivos do estudo e dos procedimentos a serem realizados, apontando-se os riscos e benefícios da pesquisa. Então, houve exposição sobre o delineamento do estudo, além da forma correta de administração do suplemento, bem como novamente a obtenção de dados (coletas sanguíneas).

Os atletas receberam material via mensagem eletrônica (Whatsapp®) com orientações (apêndice B), essas reforçadas verbalmente, acerca de critérios estabelecidos para as coletas e suplementação, incluindo: intervalo de 24 horas da prática de exercícios físicos anteriores às coletas e com 12 horas de jejum (informações cedidas no momento do agendamento); não realização de alteração, no período proposto, de sua dieta, bem como rotina de treinos; consumo de 6 cápsulas de suplemento (330.mg de *Pleurotus ostreatus*/cápsula) /placebo (330 mg de farinha de arroz integral/cápsula) ao dia, sendo 3 cápsulas consumidas no período anterior (30 minutos) à primeira refeição e 3 cápsulas no período anterior (30 minutos) à última refeição, durante 14 dias, a contar da primeira coleta sanguínea; ausência do uso de suplementos e/ou medicamentos de característica antioxidante; assistência e acompanhamento, via rede social (Whatsapp®), para lembrete sobre o consumo do suplemento/placebo e retirada de dúvidas ou apresentação de queixas, caso houvesse.

Após o aceite da realização da coleta, foi entregue o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) ao participante, este assinado em duas vias, uma cópia para o participante e outra para o pesquisador, e posteriormente os dados foram coletados, e as cápsulas contendo cogumelos ou placebo entregues.

Após a coleta de dados, os documentos e dados obtidos pela pesquisa, estão e permanecerão sob guarda e responsabilidade da pesquisadora responsável por um período de cinco anos, sendo mantidos em sigilo pela mesma. Com o fim do estudo, os participantes serão comunicados acerca dos resultados do mesmo.

O devido descarte de materiais utilizados na pesquisa ocorreu da seguinte maneira: os materiais biológicos e objetos usados para sua análise foram devidamente segregados após as análises, e então submetidos à inativação microbiana, para então

seguir ao devido descarte, em local apropriado. Os materiais deverão permanecer arquivados por cinco anos (dados, TCLE), e após este período, reciclados.

4.6 Randomização e mascaramento

A randomização do estudo foi realizada utilizando o site *www.randomization.com*. O modo gerador de sequências que foi utilizado produziu códigos alfanuméricos aleatórios, compostos por cinco dígitos cada, entregues a um voluntário externo à pesquisa, que realizou a separação das cápsulas contendo cogumelos ou placebo destinadas aos devidos participantes, sem conhecimento da pesquisadora responsável sobre qual o destino de cada uma até o término da coleta de dados. Os códigos respectivos (placebo ou suplemento) foram dispostos na forma de adesivos nas tampas dos frascos, para registro no momento de entrega ao participante, e posterior verificação de dados.

4.7 Materiais

Para a produção dos suplementos, foram necessários cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus*, que passaram por processos físico-químicos para a obtenção das cápsulas, com o emprego de soluções e equipamentos específicos para sua produção, necessitando de uma estufa e um liquidificador, bem como de cápsulas vegetais e uma encapsuladora manual.

Ainda, antes e após a administração do suplemento, houve a coleta de amostras sanguíneas dos participantes, utilizando-se seringas, agulhas e luvas descartáveis, bem como outros instrumentos, entre os quais centrífuga, além de kits reagentes e espectrofotômetro para a obtenção dos resultados.

4.8 Obtenção do suplemento

Os cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus* utilizados para o estudo foram obtidos de um produtor local. Após a obtenção, os cogumelos foram desidratados a 40° C por 48 horas, para então serem moídos até o formato de pó.

O pó foi encapsulado em cápsulas com capacidade para 330 mg de *Pleurotus ostreatus*.

Para a obtenção do placebo, cada cápsula foi preenchida com farinha de arroz integral, de modo com que a aparência, cor e peso das cápsulas fosse a mesma em ambos os casos, placebo e suplemento.

4.9 Coleta de dados

Inicialmente, foi realizado contato via redes sociais (Instagram® e Whatsapp®), com os indivíduos interessados, em que houve breve explanação acerca de objetivos e procedimentos a serem realizados. Em caso de aceite, foram agendados horários para comparecimento ao Centro cirúrgico Experimental da UNIVILLE, com solicitação prévia para a ausência de treino por um período de 24 horas, e jejum de 12 horas (Figura 3).

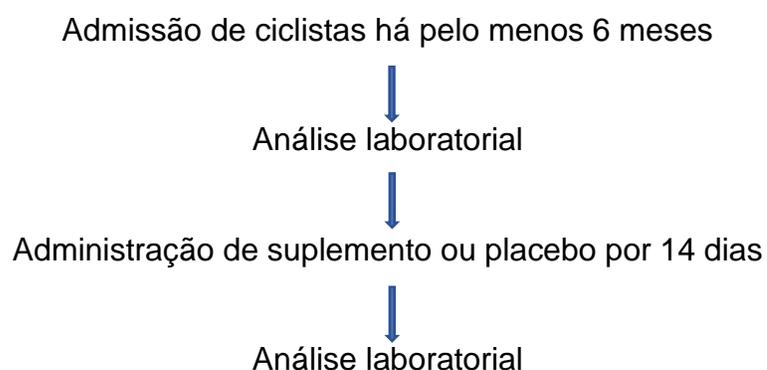
No local e data programados, foram explanados objetivos, riscos e benefícios da pesquisa, além das etapas de avaliação. Em caso de aceite, os participantes realizaram assinatura do TCLE, recebendo neste momento uma cópia do documento, bem como material eletrônico com orientações para a suplementação e coleta de dados (também apresentada verbalmente). Posteriormente, foi realizada a primeira coleta sanguínea, e então as cápsulas foram entregues aos participantes, com registro de código alfanumérico disposto na tampa do frasco (para posterior reconhecimento de grupos, placebo ou suplementado).

Ocorreu então administração do suplemento ou placebo, ingerido de forma oral pelos atletas, por um período de duas semanas (14 dias), a partir da data de coleta sanguínea inicial. Os participantes foram orientados a ingerir seis cápsulas ao dia, constituindo um total de 2 g/dia ou placebo, administradas com 30 minutos antecedentes ao café da manhã e jantar (três cápsulas em cada período).

Para auxílio no consumo e redução da possibilidade de esquecimento quanto ao uso da suplementação, foram enviadas mensagens diárias via mídia social (Whatsapp®), próximo aos períodos propostos.

Com o término da suplementação, os atletas retornaram ao Centro cirúrgico Experimental da UNIVILLE, em horário previamente agendado, para nova coleta sanguínea, em mesmas condições de jejum e período de treinos da coleta anterior.

Figura 3: Desenho do estudo



4.10 Obtenção das amostras sanguíneas

As coletas sanguíneas foram realizadas pela Técnica de Enfermagem do Centro cirúrgico Experimental da UNIVILLE. As amostras foram retiradas de veia periférica do braço (veia basílica), com coleta de cerca de 8 mL por agulhas descartáveis estéreis, em 2 tubos (4 mL/tubo, um contendo heparina para obtenção de plasma e eritrócitos e o outro gel separador para obtenção de soro) evacuados (Vacutainer®, BD, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil), devidamente etiquetados com o número correspondente da amostra.

As amostras foram cuidadosamente refrigeradas em caixa de isopor com bolsa de gelo reutilizável, sendo encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Práticas Farmacêuticas da UNIVILLE. As amostras foram dispostas em microtubos, congeladas à -80° e estocadas, para análises posteriores dos parâmetros de estresse oxidativo: peroxidação lipídica (TBA-RS), conteúdo total de sulfidrilas e teor de proteínas

carboniladas; atividade das enzimas antioxidantes: CAT, GPx e SOD; e perfil bioquímico: proteínas totais, albumina, glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL-C e colesterol LDL-C.

4.11 Preparação das amostras

4.11.1 Preparação dos eritrócitos e do plasma

Os eritrócitos e o plasma foram preparados a partir de amostras de sangue total coletadas em tubo de ensaio contendo o anticoagulante heparina.

O sangue total foi centrifugado a 1,000 x g, o plasma separado e congelado para posterior determinação de TBA-RS, conteúdo total de sulfidrilas e de proteínas carboniladas.

Os eritrócitos foram lavados 3 vezes com solução salina gelada (0,153 mol/L cloreto de sódio). Os lisados foram preparados pela adição de 0,9 mL de água destilada para 100 µL de eritrócitos lavados e congelados para posterior determinação da atividade das enzimas antioxidantes.

Para determinação da atividade das enzimas antioxidantes, eritrócitos foram congelados e descongelados 3 vezes e centrifugados a 13,500 x g por 10 min. O sobrenadante foi diluído para conter aproximadamente 0,5 mg/mL de proteína (LIMA *et al.*, 2017).

4.11.2 Preparação do soro

O sangue total foi coletado em tubo de ensaio sem anticoagulante. Após o material foi centrifugado a 1000 x g por 10 min e o soro removido para determinação de marcadores bioquímicos dos pacientes.

4.11.3 Parâmetros do estresse oxidativo

- Peroxidação lipídica: TBA-RS foi determinado de acordo com o método descrito por Ohkawa *et al.* (1979). A metodologia de TBA-RS, mensura o malondialdeído

(MDA), um produto da lipoperoxidação, causado principalmente por radicais livres OH•. O plasma foi misturado com ácido tricloroacético a 20% e 0,8% de ácido tiobarbitúrico e aquecido num banho de água fervente durante 60 min. TBA-RS foi determinado pela absorvância a 535 nm. Uma curva de calibração foi obtida utilizando 1,1,3,3-tetrametoxipropano como o precursor de MDA e cada ponto da curva foi submetido ao mesmo tratamento que o das amostras. Os resultados foram expressos em nmol de MDA por mg de proteína.

- Conteúdo total de sulfidrilas:

O conteúdo total de sulfidrilas foi determinado de acordo com o método descrito por Aksenov e Markersbery (2001), o qual se baseia na redução do ácido ditionitrobenzóico (DTNB) por tióis, gerando um derivado amarelo (TNB) que é mensurado espectrofotometricamente em 412nm (AKSENOV; MARKERSBERY, 2001). Primeiramente, 50 µL de plasma foi adicionado a 1mL de tampão PBS pH 7,4 contendo EDTA 1mM. A reação foi iniciada pela adição de 30µL de DTNB 10mM e incubada durante 30 minutos à temperatura ambiente em local escuro. Os resultados foram expressos em nmol TNB/mg de proteína.

- Conteúdo de proteínas carboniladas:

O teor de carbonilas foi verificado através de um método descrito por Reznick e Packer (1994), com base na reação de carbonilação de proteínas com dinitrofenilhidrazina formando dinitrofenilhidrazona, um composto amarelo, medido espectrofotometricamente a 370 nm.

Resumidamente, 200 uL de plasma foi adicionado a tubos de plástico contendo 400 uL de dinitrofenilhidrazina 10 mM (preparado em HCl 2 M) (REZNICK; PACKER, 1993). As amostras foram mantidas no escuro durante 1 hora e agitadas em vórtex a cada 15 min. Subsequentemente, 500 uL de ácido tricloroacético a 20% foi adicionado a cada tubo.

A mistura foi submetida a vórtex e centrifugada a 14.000 x g durante 3 min e o sobrenadante obtido descartado. O sedimento foi lavado com 1 mL de etanol / acetato de etila (1: 1 v / v), agitado e centrifugado a 14000 x g durante 3 min. O sobrenadante foi

rejeitado e o sedimento ressuspensão em 600µL de guanidina 6M (preparado numa solução de fosfato de potássio 20 mM, pH 2,3), antes de agitação em vórtex e incubação a 60°C durante 15 min. As amostras foram em seguida centrifugadas a 14.000 x g durante 3 min e o sobrenadante usado para medir a absorvância a 370 nm (UV) numa cubeta de quartzo. Os resultados foram relatados como conteúdo total de carbonilas (nmol / mg de proteína).

- Catalase (CAT):

A atividade da CAT foi ensaiada pelo método de Aebi (1984), usando um espectrofotômetro Shimadzu UV-visível (AEBI, 1984). O método utilizado baseia-se no desaparecimento de H₂O₂ num meio de reação contendo 25µL de amostra, 600 µL de tampão fosfato de potássio 10mM, pH 7,0, contendo H₂O₂ 20mM. A absorvância foi lida a cada 10 segundos por 1 minuto e 40 segundos a 240 nm em espectrofotômetro. Uma unidade de CAT é definida como 1µmol de H₂O₂ consumido por minuto e a atividade específica é calculada como unidades de CAT/mg de proteína.

- Glutathione Peroxidase (GPx):

A atividade da GPx foi mensurada pelo método de Wendel (1981), utilizando tert-butil-hidroperóxido como substrato (WENDEL, 1981). A decomposição do NADPH foi monitorada em espectrofotômetro (Shimadzu UV-visível) à 340nm por 3 minutos e 30 segundos.. O meio continha 90 µL de amostra, 20 µL de GSH 2mM, 30 µL de GSH redutase 0,15U/mL, 10µL de azida 0,4mM, 10 µL de NADPH 0,1 mM e 800 µL de tampão. A absorvância foi mensurada a cada 10 segundos por 1 minuto e 30 segundos. Em seguida, 50 µL de tert-butil-hidroperóxido 0,5 mM foi adicionado e a absorvância foi mensurada por mais 2 minutos. Uma unidade de GPx é definida como 1µmol de NADPH consumido por minuto e a atividade específica é apresentada como unidades de GPx/mg de proteína.

- Superóxido Dismutase (SOD):

A atividade da SOD foi determinada pelo método de auto-oxidação do pirogalol, como descrito por Marklund (1985), um processo altamente dependente de superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que é um substrato para a SOD (MARKLUND, 1985). Primeiramente, 15 μ L de cada amostra foram adicionados a 215 μ L de uma mistura contendo 50 μ M de tampão Tris, 1 μ M de EDTA, pH 8,2, e 30 μ M de catalase. Subsequentemente, foram adicionados 20 μ L de pirogalol e a absorbância registrada imediatamente a cada 30 segundos durante 3 minutos à 420nm usando um espectrofotômetro Shimadzu UV-visível. A inibição da auto-oxidação do pirogalol ocorre na presença de SOD, cuja atividade pode ser indiretamente testada espectrofotometricamente. Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de SOD necessária para inibir 50% da auto-oxidação de pirogalol e a atividade específica é relatada como unidades de SOD/mg de proteína.

- Dosagem de Proteínas

A determinação das proteínas foi realizada pelo método de Lowry (1951), onde foi utilizada albumina sérica bovina como padrão.

4.11.4 Análise do perfil bioquímico

As dosagens bioquímicas foram realizadas através de kits enzimáticos, de acordo com os métodos empregados pelo fabricante: glicose (teste enzimático colorimétrico Liquiform, referência 133 da Labtest), proteínas totais (teste enzimático colorimétrico Liquiform, referência 99 da Labtest), albumina sérica (teste enzimático colorimétrico Liquiform, referência 19 da Labtest), colesterol total (teste enzimático colorimétrico Liquiform, referência 76 da Labtest), colesterol HDL-C (teste enzimático colorimétrico Liquiform, referência 13 da Labtest) e triglicerídeos (teste enzimático colorimétrico Liquiform, referência 87 da Labtest).

Para a obtenção dos valores de colesterol LDL-C, foi utilizada equação de Friedewald, Levi e Fredrickson (1972), que estima o nível plasmático de LDL-C através das concentrações plasmáticas de colesterol total, HDL-C e VLDL-C (estimada a partir da concentração dos triglicerídeos) da seguinte forma:

Colesterol LDL-C (mg/dL) = Colesterol total – (HDL-C + Triglicerídeos/5).

4.12 Riscos/benefícios

Houveram riscos médios, pois o consumo das cápsulas poderia levar à dificuldade de ingestão dos suplementos, bem como engasgos. Para que se evitassem tais ocorrências, os participantes foram orientados a fazer uso do comprimido junto à ingestão de água.

Quanto aos procedimentos de coleta de sangue, apesar de pouco invasivos, esses poderiam gerar rompimentos de vasos sanguíneos e pequeno hematoma no local de aplicação da agulha, além de possível queda de pressão, tontura e desmaios. Procurando evitar tais ocorrências, a coleta das amostras foi realizada por profissional capacitado (técnico de enfermagem), com a presença de materiais adequados e em local apropriado para esta atividade.

Ainda, sob qualquer intercorrência, e em caso de necessidade, o participante seria encaminhado a atendimento especializado pelo pesquisador responsável, para a resolução de qualquer problema apresentado.

Além de conhecer os efeitos da suplementação com cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus*, o presente estudo busca ter a possibilidade de contribuir com a comunidade científica, quanto ao conhecimento a respeito desse alimento, seus potenciais benefícios e o desenvolvimento de novos produtos.

Esta pesquisa tem sua contribuição para a saúde e qualidade de vida de indivíduos atletas, bem como para a população em geral, visto que os efeitos antioxidantes dos cogumelos, se provados, poderão auxiliar na redução de desordens geradas pela presença de RLs e estresse oxidativo no organismo, garantindo também maior aporte nutricional, proporcionado por esse alimento.

Tais benefícios se estendem, ainda, ao meio ambiente, visto que a produção de cogumelos, de fácil cultivo e baixo custo, contribui para a decomposição da matéria orgânica, reduzindo a quantidade de resíduos depositados no solo.

4.13 Análise e processamento de dados

Os dados foram organizados utilizando o programa Microsoft Excel® 2019, e analisados utilizando o programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 21. Os dados foram dispostos na forma de tabelas e figuras, como médias \pm desvio padrão.

Para as variáveis categóricas, os valores de frequência absoluta e relativa foram descritos na forma de média e intervalo de confiança de 95% (limites inferior e superior), e o teste de qui-quadrado ou exato de Fisher foi utilizado para fazer a comparação entre os grupos.

Para a verificação de perfil bioquímico e parâmetros do estresse oxidativo, entre grupos e períodos antes-após a suplementação, Teste t de Student pareado bicaudal foi aplicado entre os grupos antes-depois, para cada variável dos grupos controle e intervenção, quando as variáveis se apresentaram paramétricas conforme do teste de normalidade D'Agostino-Pearson e teste de Wilcoxon pareado quando as variáveis não se apresentaram paramétricas (não assumiram distribuição gaussiana). Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

5 INTERDISCIPLINARIEDADE

A interdisciplinaridade se trata de um adjetivo do comum a dois ou mais ramos do conhecimento, promotora de uma visão ampla sobre aquilo que é avaliado. Desta forma, o principal foco do estudo se dá na área da saúde, verificando a efetividade da suplementação com *Pleurotus ostreatus* sobre a redução do estresse oxidativo em indivíduos atletas, elevado na prática de atividades físicas extenuantes; e melhora do perfil bioquímico.

O projeto também engloba a área ambiental, devido à importância dos cogumelos em seu meio de desenvolvimento, com a ação de enzimas digestoras, produzidas pelos fungos, na decomposição de matéria orgânica e reaproveitamento de resíduos agroindustriais no seu processo de produção.

Ainda, a facilidade de produção e composição nutricional dos fungos estão diretamente relacionadas a um problema de saúde pública, a subnutrição, característica que afeta diversos países, e que no Brasil acomete uma grande parte da população, em que tanto a fome como o excesso de alimentação contribuem para o desenvolvimento de doenças no país.

EFFECTS OF *PLEUROTUS OSTREATUS* SUPPLEMENTATION ON BIOCHEMICAL PROFILE AND OXIDATIVE STRESS IN CYCLISTS

Nathália Jahn¹, Daniela Delwing de Lima¹⁻², Débora Delwing-Dal Magro³, Larissa Delmonego¹, Marina Quirino Leandro da Silva², Gustavo Henrique Alves Manhaguanha².

¹Post-Graduation Program in Health and Environment, University of Joinville Region – UNIVILLE, Avenue Paulo Malschitzki,10 - North Industrial Zone, 89201-972, Joinville, SC, Brazil.

²Department of Medicine, University of Joinville Region – UNIVILLE, Avenue Paulo Malschitzki,10 - North Industrial Zone, 89201-972, Joinville, SC, Brazil.

³Department of Natural Sciences, Center of Exact and Natural Sciences, Regional University of Blumenau, Avenue Antônio da Veiga, 140, 89012-900, Joinville, SC, Brazil.

*Address for correspondence: Dr. Daniela Delwing-de Lima, Post-Graduation Program in Health and Environment; Department of Medicine, University of Joinville Region – UNIVILLE, Avenue Paulo Malschitzki, 10 - North Industrial Zone, 89201-972, Joinville, SC, Brazil, Phone 55 47 3461 9112, E-mail: daniela.delwing@univille.br; danidelwing@hotmail.com

ABSTRACT

INTRODUCTION: Mushrooms are fungi that have good nutritional composition, in addition to functional properties with potential effects, including antioxidant, anti-inflammatory, antiviral and hypoglycemic, in addition to their ability to reduce free radicals (FR) and oxidative stress in the body. Despite the benefits sport practice, excessive physical exercise can lead to the occurrence of cellular and tissue damage, greater involvement on inflammatory processes and immunosuppression. **OBJECTIVES:** To analyze the effects of *Pleurotus ostreatus* mushroom extract supplementation on biochemical indicators and oxidative stress markers in cycling athletes from Joinville-SC, before and after supplementation, in comparison to placebo. **MATERIAL AND METHODS:** This is a descriptive, randomized, double-blind, placebo-controlled study, with a sample selected for convenience, carried from May 2021 to February 2022, in the city of Joinville - SC. After approved by the Univille University Research Ethics Committee under the CEUA protocol number 4.493.190, men from 18 to 60 years old were recruited, with periodic training for at least 5 hours a week. In total 19 participants were evaluated for 14 days, in which 9 men consumed the supplement and another 10 consumed placebo. Capsules (330 mg of *Pleurotus ostreatus* or placebo) and guidelines for supplement administration and blood collections were delivered. Questions about anthropometric and train aspects were asked orally. Samples were collected after fasting for 12 hours in the area of laboratories of the Univille Experimental Surgery Center, before and after 14 days of supplementation, and sent directly to evaluations. The oxidative stress parameters analyzed were thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS), total sulfhydryl and carbonyl protein content and the activity of the antioxidant enzymes catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) and biochemical profile were glucose, total proteins, albumin, total cholesterol, HDL-C, LDL-C and triglycerides. To obtain LDL-C, the Friedewald, Levi and Fredrickson equation was used. Results were analyzed by Statistical Package for Social Sciences (SPSS) program and expressed as mean and standard deviation (+SD). Categorical variables were described as mean and 95% confidence interval and the chi-square or Fisher's exact test was used to compare the groups. To verify the biochemical profile and parameters of oxidative stress, between groups and

periods before-after supplementation, two-tailed paired Student's t test was applied between groups before-after. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. **RESULTS:** Participants had a mean age of 36 years (± 9.0), 1.78 meters (± 0.1) and body index of 24.2 kg/m^2 (± 2.9). A mean number of cyclists answered to have a weekly frequency of 5-7 days train ($n=12$, 63.1%), in a period between 3 to 5 hours/day ($n=14$, 73.6%). When evaluated biochemical indicators, *Pleurotus ostreatus* presented its effectiveness in the increase of albumin ($p=0.0401$) and HDL-C ($p=0.0093$) levels in the intervention group. Oxidative stress parameters showed a reduction in the protein carbonyl content ($p=0.0401$) and increase in all antioxidant enzymes, CAT ($p=0.0147$), GPx ($p=0.0212$) and SOD ($p=0.0201$), in participants who consumed mushroom supplement.

CONCLUSION: Results suggest that the consumption of *Pleurotus ostreatus* improved lipidic profile and oxidative stress parameters in cyclists. More studies are needed in order to confirm its benefits considering different variables.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, Oxidative Stress, Free Radicals, Supplements, Exercise.

1 INTRODUCTION

Mushrooms belong to the Fungi Kingdom and are defined by Shu-Ting Chang as “[...] macro fungi with characteristics fruiting bodies, big enough to be visible with naked eye and collected with hands” (1). They are multicellular, eukaryotes, heterotrophs and saprophytes beings, which obtain its source of living by organic matter decomposition, contributing to the environment (2).

Mushrooms have different and characteristic functions, with their consumption rising globally. *Pleurotus* spp. is one of the main types of edible mushrooms, a sensitive and delicate product, easy to grow in a vary of climatic conditions (3). Mushrooms from this genus are made of 80-90% of water and 50-60% of carbohydrates, including mono and oligosaccharides. They have low lipid content, in special, formed by monounsaturated fats, no presence of cholesterol, and contain essential amino acids, which contribute to a healthy body (4). The nutritional composition of mushrooms contributes to functional properties, such as antioxidant, anti-inflammatory and antiviral effects, reduction of hypercholesterolemia and hyperglycemia, also contributing for taste and texture in a lot of culinary prepares (3).

Pleurotus are rich in fibers, specially β -glucans, a polysaccharide that acts as prebiotic, minerals (potassium, phosphor, magnesium, calcium, copper, iron, zinc, selenium), vitamins (C, D and E), glutathione and L-ergothioneine. These nutrients can contribute to a lot of benefits evolving quality of life, being associated with a reduction of diseases, such as osteoporosis, diabetes and better immune system (5). The nutritional properties shown in mushrooms can also be beneficial athletes, leading to a reduction of exhaustion caused by train and competitions, increased ability of free radicals' elimination and bigger exercise insensitivity, which contributes to better results in sports (4).

The practice of exercises helps in the combat noncommunicable diseases (NCDs) and body's health. On the contrary, when the exercise is done in an exhaustive way, it can configure one of the main factors to the occurrence of cellular and tissues damages, due to the increase in the metabolic activity, with biochemical and physiological changes, the increase of free radicals' production, inflammatory process and immunosuppression (5).

Thus, considering the potential benefits of edible mushrooms in health and physical performance, this study aimed to answer this question: Can the antioxidant properties existent in *Pleurotus ostreatus* contribute to reductions of oxidative stress markers and improve biochemical profile in cyclists?

2 MATERIALS AND METHODS

This study was a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in which participants were randomly assigned by a computer-generated sequence to either receive 2g/day of *Pleurotus ostreatus* powder) or 2g/day of placebo (brown rice flour), both consumable in 6 soft gel capsules. Participants were instructed to maintain consistent dietary and physical training habits throughout the study. There was a collection of blood sample before and two weeks after supplementation, in order to evaluate biochemical and oxidative parameters.

2.1 Participants

Twenty-four (36 ± 9.0 years) men volunteered for the study. Nineteen (79%) completed the intervention. Participants were recruited from social media advertisements, cycling teams and associations. The cyclists were screened and excluded if they had any medical conditions of limitation to the study and/or were in use of medicines which could lead to metabolic changes. The study was approved by the Univille University Research Ethics Committee under the CEUA protocol number 4.493.190 and a written informed consent was obtained from each participant.

2.2 Supplementation Protocol

Participants in the intervention and placebo group were instructed to consume 6 capsules per day during 14 days. The cyclists were asked to take their supplement 30 minutes before the first (3 capsules) and last (3 capsules) meal. Both intervention and

placebo capsules were produced by the main researcher, with *Pleurotus ostreatus* coming from an organic producer of Joinville (SC, Brazil).

2.3 Samples preparation

A blood sample was collected from each participant, before and after the supplementation period. The sample was taken from a peripheral vein (basilica vein) after fasting for 12 hours.

Serum preparation

Serum was produced from total blood samples obtained from rats. The peripheral blood was immediately collected and transferred to tubes without anticoagulant, centrifuged at 1,000 rpm for 10 min, after separation and used for studies of biochemical parameters (Lima et al., 2017).

Erythrocytes and plasma preparation

Erythrocytes and plasma were prepared using whole blood samples from rats. Whole blood was collected and stored in heparinized tubes in order to separate erythrocytes. Blood samples were centrifuged at 1,000 × g, the plasma was removed by aspiration and frozen at -80° C until analysis. The erythrocytes were washed three times with cold saline solution (0.153 mol / L sodium chloride). Lysates were prepared by adding 1 mL of distilled water to 100 µL of washed and frozen red blood cells at -80° C until the antioxidant enzyme activities were performed.

To define the activity of the antioxidant enzymes, the erythrocytes were frozen and thawed three times and centrifuged at 13,500 × g for 10 min. The supernatant was diluted to a concentration around 0.5 mg / ml of protein.

2.4 Biochemical Profile and Parameters of Oxidative Stress

Biochemical dosages

Biochemical dosages (glucose, total protein, albumin, total cholesterol, serum high-density lipoprotein (HDL-C) and triglycerides) was measured by enzymatic Liquiform kits (Labtest). Absorbance was verified using a UV-vis Shimadzu spectrophotometer, according to the manufacturer's package insert.

. Serum low-density lipoprotein (LDL-C) was taken from the equation described by Friedewald, Levi and Fredrickson: Total cholesterol – (HDL-C + triglycerides/5).

Oxidative Stresse Parameters

Thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS)

TBA-RS were defined according to the method of Ohkawa et al. (1979). The methodology for the study of TBA-RS measures malondialdehyde (MDA), resulting from lipoperoxidation, provided predominantly by hydroxyl free radicals. At first, plasma and kidney in 1.15% KCl was mixed with 20% trichloroacetic acid and 0.8% thiobarbituric acid and heated in a boiling water bath for 60 min. TBA-RS were determined by the absorbance at 535 nm. A calibration curve was acquired using 1,1,3,3-tetramethoxypropane as the MDA precursor and each curve point was exposed to the same treatment as that of the supernatants. TBA-RS content was presented in nanomoles of MDA formed per milligram of protein.

Total Sulphydryl Content

The total sulphydryl content was performed following the method of Aksenov & Markersbery (2001), based on the reduction of dithionitrobenzoic acid (DTNB) by thiols, yielding a yellow derivative (TNB), which is evaluated spectrophotometrically at 412 nm. For the assay, 50 μ L of homogenate was added to 1 mL of phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4, composed of 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). The reaction started with the addition of 30 μ L of 10 mM DTNB and incubated for 30 minutes at room temperature in the dark. Analyses of a blank (DTNB absorbance) was also performed. The results were presented as nmol TNB/mg protein.

Protein carbonyl Content

Protein Carbonyl content was tested using the methodology detailed by Reznick & Packer (1994), based on the reaction of protein carbonyls with dinitrophenylhydrazine, in order to form dinitrophenylhydrazone, a yellow compound that is measured spectrophotometrically at 370 nm. Briefly, 200 μ L of plasma or homogenate were added

to plastic tubes containing 400 μL of 10 mM dinitrophenylhydrazine (prepared in 2M HCl). Samples were kept in the dark for 1 h and vortexed every 15 min. Successively, 500 μL of 20% trichloroacetic acid were added to each tube. The mixture was vortexed and centrifuged at 14.000 rpm for 3 min and the resulting supernatant was excluded. The pellet was washed with 1 mL ethanol/ethyl acetate (1:1 v/v), vortexed and centrifuged at 14.000 rpm for 3 min. The supernatant was discarded and the pellet re-suspended in 600 μL of 6 M guanidine (prepared in a 20 mM potassium phosphate solution, pH 2.3), pre-vortexed and incubated at 60 ° C for 15 min. Thus, samples were centrifuged at 14.000 rpm for 3 min and the supernatant was used to measure absorbance at 370 nm (UV) in a quartz cuvette. Results were described as carbonyl content (nmol/mg protein).

Catalase Assay (CAT)

CAT activity was established by the method of Aebi (1984). This method is based on the disappearance of hydrogen peroxide (H_2O_2) in a reaction medium composed by 25 μL of sample and 600 μL of 10 mM potassium phosphate buffer, pH 7.0, 20 mM H_2O_2 . The absorbance was counted every 10 seconds for 1 minute and 40 seconds at 240 nm using a spectrophotometer. One CAT corresponds to 1 μmol of H_2O_2 consumed per minute and the specific activity is calculated as CAT units/mg protein.

Superoxide Dismutase Assay (SOD)

SOD activity was analyzed by the methodology of Marklund (1985), a procedure extremely dependent of superoxide ($\text{O}_2^{\cdot-}$), which is a substrate for SOD. 15 μL of each sample was added to 215 μL of a mixture containing 50 μM Tris buffer, 1 μM EDTA, pH 8.2, and 30 μM CAT. Then, 20 μL of pyrogallol was added and the absorbance was counted every 30 seconds for 3 minutes at 420 nm using a spectrophotometer. Inhibition of auto-oxidation of pyrogallol occurs in the presence of SOD, the activity of which can be indirectly tested spectrophotometrically. One unit of SOD is determined as the amount of SOD required to inhibit 50% of the auto-oxidation of pyrogallol and the specific activity is reported as SOD units/mg protein.

Glutathione Peroxidase Assay (GPx)

GPx activity was measured by the method of Wendel (1981), having *tert*-butylhydroperoxide as substrate. The decomposition of NADPH was controlled in a spectrophotometer at 340 nm for 3 minutes and 30 seconds. 90 µL of each sample was added to the medium containing 800 µL of buffer, 20 µL of 2.0 mM GSH, 30 µL of 0.15 U/mL GSH reductase, 10 µL of 0.4 mM azide, and 10 µL of 0.1 mM NADPH. The absorbance was counted every 10 seconds for 1 minute and 30 seconds. Then, 50 µL of 0.5 mM *tert*-butylhydroperoxide was added and the absorbance was read for more 2 minutes. One GPx unit is characterized as 1 µmol of NADPH consumed per minute and the specific activity is defined as GPx units/mg of protein.

Protein determination

Protein was established by the Lowry et al. (1951) method, using serum bovine albumin as standard.

2.5 Statistical Analysis

Data were organized by Microsoft Excel® 2019 program and analyzed by Statistical Package for Social Sciences (SPSS) program, version 21, then reported as means and standard deviations. Relative and absolute change scores are reported as mean and 95% confidence intervals (lower bound, upper bound).

For categorical variables, chi-square teste or Fisher's exact test was used to compare groups. For verification of biochemical and oxidative stress parameters, Student's two tailed t-test was used for each variable of groups intervention and control, before and after supplementation. D'Agostino-Pearson normality test was applied to parametric variables. Wilcoxon paired test was applied to non-parametric variables (no gaussian distribution).

Value of $p \leq 0,05$ were considered statistically significant.

3 RESULTS

3.1 Profile and anthropometric characteristics

Twenty-four cyclists were evaluated, but only nineteen concluded all the steps of this study, with all losses occurring due to the lack of the second blood collect. Cyclists were divided in intervention (n=9) and placebo group (n=10) (table 1).

Participants who concluded the test had a mean age of 36 years (± 9.0), 1.78 meters (± 0.1) and body index of 24.2kg/m² (± 2.9). There was no significative difference between groups ($p > 0,05$).

When asked about the period of training, a mean number of cyclists answered to have a weekly frequency of 5-7 days (n=12, 63.1%). The number was higher among the intervention group (n=7, 36.8%). The period of time of cycling per day was the interval between 3 and 5 hours (n=14, 73.6%).

Table 1: Characteristics of cyclists supplemented with *Pleurotus ostreatus* or placebo.

Characateristics	Intervention (n=9)	Placebo (n=10)	P value
Age ^a , y	32.3 \pm 3.0	40.1 \pm 11.0	0.580 ^b
Weight ^a , kg	79.8 \pm 13.3	80.9 \pm 9.5	0.821 ^b
Height ^a , m	1.77 \pm 0.1	1.81 \pm 0.1	0.392 ^b
BMI ^a , kg/m ²	25.3 \pm 2.8	24.8 \pm 3.1	0.703 ^b
Weekly frequency of cycling^a			0.70 ^c
2 days or less	1 (5.3)	-	
3 to 5 days	1 (5.3)	5 (26.3)	
5 to 7 days	7 (36.8)	5 (26.3)	
Time spent per day^b			0.14 ^c
1 a 2 horas	2 (10.5)	3 (15.8)	
3 a 5 horas	7 (36.8)	7 (36.8)	

Kg, kilo; M, meter; BMI, body index mass. ^aMean (Standard Deviation); ^bAbsolute Frequency (Relative Frequency %); ^cChi-square test.

3.2 Biochemical profile

There was no significant difference ($p < 0.05$) in glucose, triglycerides and total proteins levels of both groups after 14 days of study. Otherwise, results showed an increase in the levels of albumin (before 4.6 ± 0.3 , after 4.7 ± 0.4 , $p = 0.0401$), HDL-C (before 49.0 ± 11.1 , after 55.0 ± 13.6 , $p = 0.0093$) and reduction of LDL-C levels (before 110.2 ± 62.5 , after 63.0 ± 36.4 , $p = 0.0273$) on the intervention group. The content of total cholesterol and LDL-C on the placebo group also changed significantly (before 197.5 ± 47.2 , after 157.0 ± 39.5 , $p = 0.0161$; before 123.5 ± 40.3 , after 105.0 ± 38.0 , $p = 0.0102$) respectively (Table 2).

When variations after supplementation were evaluated between groups, there was only a significant difference of total cholesterol ($p = 0.0023$) and LDL-C ($p = 0.0195$) parameters, with lower values for individuals of intervention group (Figures 1, 2).

Table 2: Analyse of biochemical profile of cyclists before and after 14 days supplementation with *Pleurotus ostreatus* or placebo.

Characteristics ^a	Intervention (n=9)			Placebo (n=10)		
	1 st Analyse	2 nd Analyse	<i>P</i> value	1 st Analyse	2 nd Analyse	<i>P</i> value
Glucose, mg/dL	83.0 \pm 12.2	83.0 \pm 8.8	0.1334	84.0 \pm 15.7	84.5 \pm 13.9	>0.9999
Triglycerides (mg/dL)	68.0 \pm 46.2	56.0 \pm 29.2	0.1295	61.0 \pm 86.3	52.5 \pm 54.3	0.1106
Total cholesterol (mg/dL)	175.0 \pm 61.9	135.0 \pm 37.0	0.555	197.5 \pm 47.2	157.0 \pm 39.5	0.0161
HDL-C cholesterol (mg/dL)	49.0 \pm 11.1	55.0 \pm 3.6	0.0039	44.5 \pm 11.6	47.5 \pm 9.8	0.500
LDL-C cholesterol (mg/dL)	110.2 \pm 62.5	63.0 \pm 36.4	0.0273	123.5 \pm 40.3	105.0 \pm 38.0	0.0102
Albumin (mg/dL)	4.6 \pm 0.3	4.7 \pm 0.4	0.0401	4.2 \pm 0.4	4.2 \pm 0.2	0.9128
Total protein (mg/dL)	7.4 \pm 0.5	7.4 \pm 0.3	0.8125	7.1 \pm 0.4	7.1 \pm 0.3	0.5194

HDL-C, high-density lipoprotein, LDL-C, low-density lipoprotein, mg/dL, milligrams per deciliter. ^aMean (Standard Deviation). Level of significance of alteration in the second Analyse verified by Student's two tailed t-test two-tail. Bold values = $p \leq 0,05$.

Figure 1: Changes Total cholesterol values (mg/dL) among intervention and placebo group after 14 days supplementation.

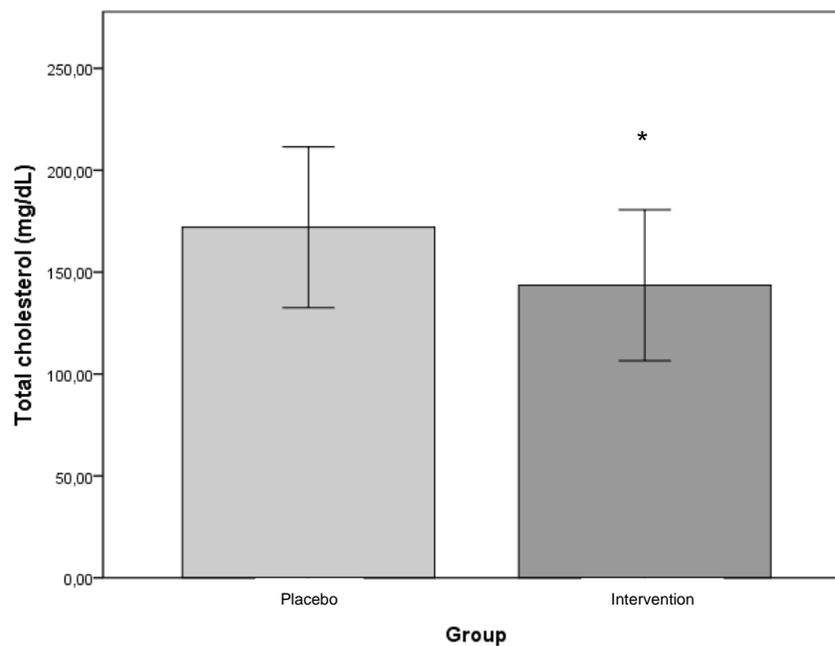
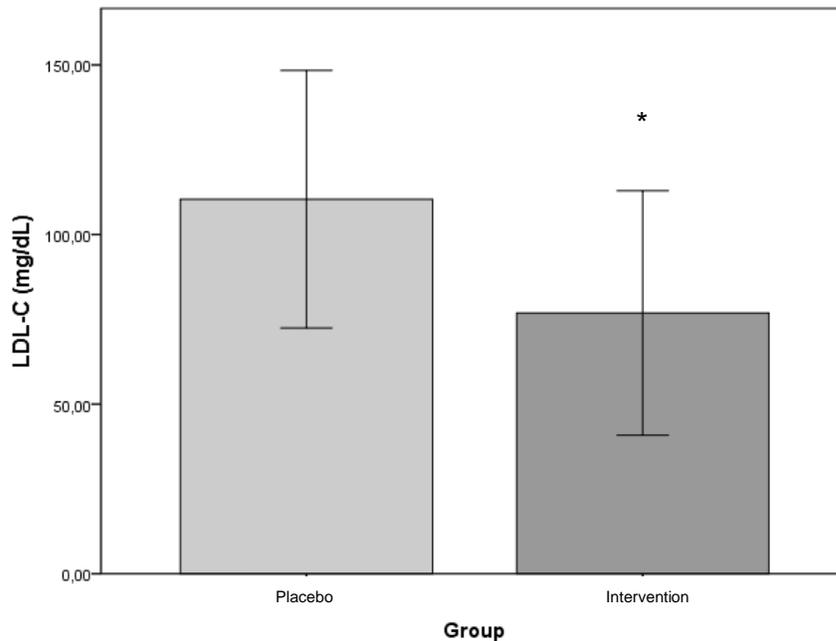


Figure 2: Total LDL-C values (mg/dL) among intervention and placebo group after 14 days supplementation.



3.3 Oxidative stress markers

Results didn't show a significant difference ($p > 0.05$) in the levels of TBA-RS in neither both groups nor between them. Conversely, results showed increase in the levels of total sulfhydryl content (before 36.0 ± 2.1 , after 43.0 ± 5.9 , $p = 0.0193$), and in the activity of antioxidant enzymes CAT (before 21.0 ± 1.9 , after 26 ± 3.8 , $p = 0.0147$), GPx (before 9.9 ± 1.0 , after 10.5 ± 1.3 , $p = 0.0212$) and SOD (before 5.8 ± 0.3 , after 6.2 ± 0.3 , $p = 0.0201$). Furthermore, results showed decrease in the levels of protein carbonyl content (before 11.0 ± 1.0 , after 9.0 ± 2.1 , $p = 0.0401$) in the intervention group after supplementation.

Considering the placebo group, results showed an increase in the amount of total sulfhydryl content (before 36.0 ± 3.5 , after 45.5 ± 4.9 , $p = 0.017$) (Table 3).

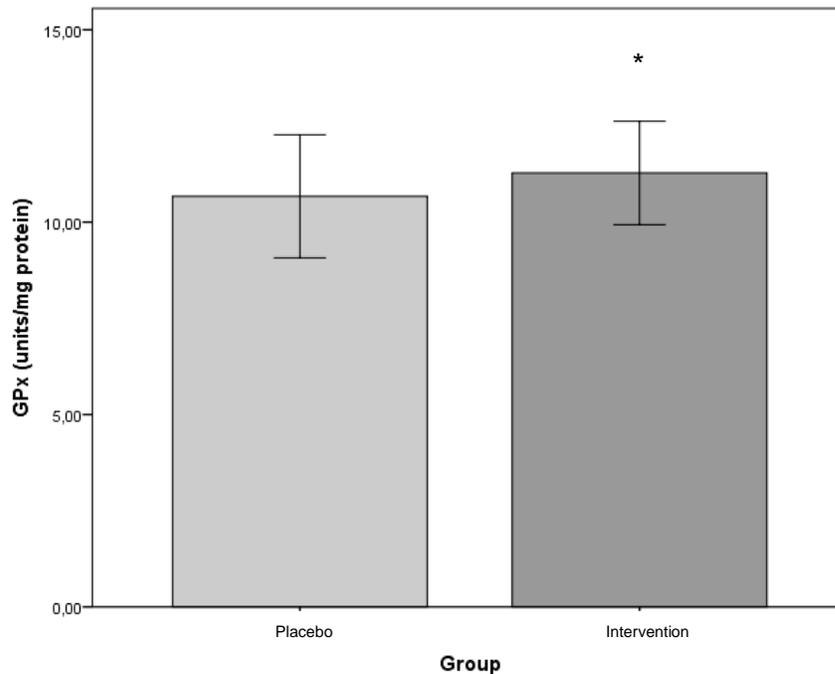
The correlation between groups presented statistical difference only for GPx marker, higher in cyclists who received *Pleurotus ostreatus* ($p = 0.0103$) (Figure 3).

Table 3: Analyse of oxidative stress parameters in cyclists before and after 14 days of supplementation with *Pleurotus ostreatus* or placebo.

Characteristics ^a	Intervention			Placebo		
	1 st Analyse	2 nd Analyse	<i>P</i> value	1 st Analyse	2 nd Analyse	<i>P</i> value
TBA-RS (nmol de MDA/mg of protein)	2.9±0.3	2.9±0.3	0,8939	2.9±0.2	2.8±0.2	0,674
Total sulfhydryl content (nmol TNB/mg of protein)	36.0±2.1	43.0±5.9	0.0193	36.0±3.5	45.5±4.9	0.0017
Protein carbonyl content (nmol/mg of protein)	11.0±1.0	9.0±2.1	0.0401	12.5±1,3	11.5±3,6	0.0651
CAT (units/mg of protein)	21.0±1.9	26.0±3.8	0.0147	22.0±1.9	24.5±2.9	0.2529
GPx (units/mg of protein)	9.9±1.0	10.5±1.3	0.0212	10.5±1.7	9.8±1.6	0.5008
SOD (units/mg of protein)	5.8±0.3	6.2±0.3	0.0201	6.0±0.3	6.0±0.4	0.8549

CAT, catalase; GPx, glutathione peroxidase; SOD, superóxido dismutase; TBA-RS, thiobarbituric acid-reactive substances; TNB, thionitrobenzoic acid; mg, milligram; nmol, nanomole. ^aMean (Standard Deviation). Analyse verified by Student's two tailed t-test two-tail. Bold values = $p \leq 0,05$.

Figure 3: Alterations in the activity of GPx enzyme among intervention and placebo group, after 14 days supplementation.



4 DISCUSSIONS

This study aimed to verify the effects of consumption of mushrooms from *Pleurotus ostreatus* in cyclists after 14 days of supplementation, evaluating biochemical and oxidative stress parameters. Considering the anthropometric data presented, there was no significant variation ($p>0.05$) of weight, high and BMI among participants of the two groups, intervention and placebo. These data represent homogeneity among participants of the study.

Although the BMI does not distinguish body fat of muscle mass, it is used as measure of total fat present in the individual. BMI is a simple, easy and low-cost method, with values associated with the risk of a range of nutritional diseases (6). Regardless of being a parameter accepted worldwide and having its importance for detecting nutritional risks in different age ranges, BMI has no distinguishment among lean mass and tissues with predominance of fat. According to the American College of Sports Medicine (7), eutrophic people can be classified as overweight or obese by this method, due to the amount of lean mass existent in the body.

When asked about the time spent cycling, most of participants reported a period of 3 to 5 hours/day, in a frequency of 5 to 7 days per week. When groups were compared, there was no significative variance, but these results show a high volume of training among cyclists.

Considering the biochemical profile, the levels of albumin were higher for intervention group, presenting statistical difference in comparison with the first analyze. The same was found by comparing both groups, in which supplementation was different of the placebo group. Albumin is the main protein found in plasma, representing 50% of the total of proteins in the blood. It has a lot of functions and can suffer alterations from factors such as infections, catabolism, energetic-protein malnutrition, which cause reduction of albumin levels. Still, anabolism, increase of protein ingestion and supplementation can elevate its concentrations (8). This marker is also an antioxidant component, neutralizing reactive oxygen species (ROS), suggesting benefits of *Pleurotus ostreatus* consumption for avoiding catabolism and oxidative stress (9).

Mushrooms contain all the essential amino acids that a body needs, property which differ them from other vegetables, limited in one or some amino acids such as lysin and methionine (8). Thus, changes in the albumin levels observed in the intervention group probably occurred due to the increased consumption of amino acids found in *Pleurotus ostreatus*.

Also, supplementation presented an increase in the HDL-C and reduction in the LDL-C levels, in the intervention group, despite results didn't show statistical difference for the biochemical indicators glucose triglycerides and total proteins.

The group placebo also presented alterations in the levels of total cholesterol and LDL-C. These alterations in these biochemical parameters may have occurred due no homogeneity of samples, due the influence of some factors, such as food consumption changes during the period of supplementation, and limited number of participants.

Considering that the amount of LDL-C cholesterol is dependent of both, total cholesterol and HDL-C levels, alterations in these markers lead to statistical differences for groups intervention and placebo to LDL-C. Thus, due to the lack of homogeneity in the total cholesterol and its influence in the LDL-C, only HDL-C can be considered an altered lipid marker after supplementation, with alteration occurring only in intervention group.

Despite limitations of the study, the presence of alfa-linolenic, low amount of arachidonic acid and products of lipid peroxidation in comparison with other species of mushrooms, such as *Ganoderma lucidum* e *Agaricus bisporous*, can contribute to an improvement of lipidic profile, as showed in the intervention group, contributing to the improvement of health cardiovascular system, as well as the whole body (5,10).

Hossain et al. (10) performed an experiment in animal model to analyze potential effects of *Pleurotus ostreatus* in hypercholesteremic mice. The group with altered levels of blood lipids showed an improvement of its lipidic profile, although there was no change among the group within normal levels of lipids. Results suggest that the consumption of mushrooms don't affect basal metabolism required for basic functions of the body, but can have its contributions in cases of alterations, like the hypercholesterolemia (8). Furthermore, fibers present in mushrooms also have a relevant function to adequation of lipidic levels, with amounts varying from 7 to 11g in each 100g of food (11).

Ravi et al.(12) realized a study with the objective of evaluating the antidiabetic potential of *Pleurotus ostreatus* in mice induced to hyperglycemia. A significative reduction of the blood glucose was verified after supplementation with ethanoic extract, a different result from the one found here, in which there was no changes in the glucose concentration for intervention group (11).

Effects of *Pleurotus ostreatus* in the oxidative stress parameters showed significantly difference in the total sulfhydryl content of both, intervention and placebo groups. As showed by total and LDL-C cholesterol, this data leads to a needing for new studies, to confirm the effects of *Pleurotus ostreatus* on increasing sulfhydryl levels, since alteration of this parameter in placebo group representing a lack of homogeneity of samples.

Other markers presented statistical differences on intervention group: protein carbonyl content, as well as all the antioxidant enzymes analyzed: CAT, GPx and SOD. These results suggest the presence of positive effects for participants who consumed the supplement, confirming the antioxidant activity of the *Pleurotus ostreatus*

When analyzed between groups, protein carbonyl content, CAT and SOD didn't show a significative difference, only presented by the enzyme GPx. But it's necessary to consider that just the second analyze was taken into account in this evaluation. Therefore,

if placebo group had no changes after the period of supplementation, it represents a homogeneity of samples, and the presence of change in all markers (carbonyl protein content, CAT, SOD and GPx) with the consumption of *Pleurotus*, contributes for the mushroom's effectiveness as a food with antioxidant properties.

An effective antioxidant defense system is very important in conditions such as sports of high performance, which contributes to biological adaptations that avoid possible damages from increasing oxidative stress in body. The use of isolated substances in high doses may affect these adaptations. Despite it, the same does not happen if appropriate levels of antioxidants are consumed from primary sources, such as food (5).

Other food besides mushrooms have been evaluate for its antioxidant potential effects in physical performance. Souza (13) studied the effects of acai on inflammatory and oxidative markers in cyclists, after an intake of 400g/day in a period of 30 days. Results demonstrated a reduction of 8.53% on lipid peroxidation and an improvement of antioxidant capacity in individuals that consumed acai, in comparison with the people who consumed placebo (13).

Other studies suggest that mushrooms can pursuit more benefits when present in athletes' lives, such as higher immunological cellular response and reduction of infectious diseases (12, 14).

Bergendiova et al. (14) realized a 3-month study with athletes of several modalities, in which infection symptoms of respiratory tract and other parameters of immunologic action were verified. Authors noticed a reduction of symptoms, with increase in Natural killer cells and a phagocytoses improvement, indicating an attenuation of infections cases among athletes (12).

With the presented results, it's possible to suggest that *Pleurotus ostreatus* showed benefits on lipidic profile and antioxidant ability, with increase of HDL-C, albumin, antioxidant enzymes (CAT, GPx and SOD) and reduction of protein carbonyl content.

Factors such as time of consumption and dose of supplement are essential and can contribute to the absence of better results. Also, a limitation in the number of participants and the lack of control about another aspects, such as diet and training protocol, might have its contributions to some of the changes found in the control group.

These analyzes reinforce the needing for new evaluations with variables of time and dose of *Pleurotus ostreatus*, in order to effective the benefits of mushroom for athletes, and turn it possible to extend these benefits to another people.

5 CONCLUSION

Results suggest that the consumption of *Pleurotus ostreatus* improved lipidic profile and the redox state in cyclists, suggesting that the consumption of *Pleurotus ostreatus*, due to its antioxidant and nutritional properties, may benefit the performance of cyclist athletes. Both the availability of time and the desire to participate contributed to the limitation of the number of cyclists evaluated. Still, the time and dose of administration of this mushroom were determining factors for the potential benefits. Finally, we hope that new studies can be realized, with an increased number of athletes and new variations of time and amount of *Pleurotus ostreatus*, in order to effective benefits shown in this study, expanding its goals to other sports and population, in general.

REFERENCES

1. Obe SC, Mshigeni KE. Mushroom Farming: Life-changing Humble Creatures. 1st ed. Vol. 2. Scholars' Press; 2013.
2. Soccol CR, Vítola FMD, Rubel R, Falbo MK, Letti LAJ, Bellettini M, et al. Cogumelos uma fonte promissora de compostos ativos para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos e nutracêuticos. In: Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol 4. Editora Blucher; 2017. p. 315–60.
3. Tolera KD, Abera S. Nutritional quality of Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) as affected by osmotic pretreatments and drying methods. Food Science and Nutrition. 2017 Sep 1;5(5):989–96.
4. Rathore H, Prasad S, Sharma S. Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. PharmaNutrition. 2017 Jun;5(2):35–46.

5. Carrasco-González JA, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2017 May; 58:69–81.
6. Hirsch KR, Mock MG, Roelofs EJ, Trexler ET, Smith-Ryan AE. Chronic supplementation of a mushroom blend on oxygen kinetics, peak power, and time to exhaustion. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2015 Dec;12(S1).
7. Pierezan B, Webber B, Vidmar MF, Martins CA de Q, Almeida CR de, Siqueira L de O. Análise do perfil oxidativo de diferentes amostras biológicas de pacientes com lesão de ligamento cruzado anterior. *Fisioterapia e Pesquisa*. 2017 Jun;24(2):198–204.
8. Brazil, Ministério da Saúde. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN. 1st ed. Vol. 1. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.
9. Starrett K, Cordoza Glen. *Becoming a Supple Leopard: The Ultimate Guide to Resolving Pain, Preventing Injury, and Optimizing Athletic Performance*. 400 p.
10. Lopes J, Santos D. Avaliação Do Estresse Oxidativo E Lesão Muscular No Exercício Resistido De Alta Intensidade Em Animais Tratados Com *Bowdichia Virgilioides*. 2014;
11. Pinto R de S. Inibição do estresse oxidativo em macrófagos previne a redução no conteúdo do receptor ABCA-1 induzida por albumina modificada por glicação avançada. [São Paulo]; 2011.
12. Dos TR, Daniele S; Costa G. A INFLUÊNCIA DA HIPOVITAMINOSE D SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR E CONDICIONAMENTO FÍSICO CARDIORRESPIRATÓRIO.
13. Hossain S, Hashimoto M, Choudhury EK, Alam N, Hussain S, Hasan M, et al. Dietary mushroom (*Pleurotus ostreatus*) ameliorates atherogenic lipid in hypercholesterolaemic rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2003 Jul;30(7):470–5.
14. Deepalakshmi K, Mirunalini S. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. *J Biochem Tech*. 2014;5(2):718–26.
15. Ravi B, Renitta RE, Prabha ML, Issac R, Naidu S. Evaluation of antidiabetic potential of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in alloxan-induced diabetic mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 2013 Feb 7;35(1):101–9.

16. Souza SIBMTS. Suplementação de açaí em ciclistas: efeitos sobre marcadores inflamatórios, oxidativos e capacidade aeróbia. [Araraquara]; 2018.
17. Bergendiova K, Tibenska E, Majtan J. Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation, cellular immune response and respiratory tract infections in athletes. *European Journal of Applied Physiology*. 2011 Sep 20;111(9):2033–40.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos após a administração de *Pleurotus ostreatus* sugerem melhora do perfil lipídico e de parâmetros do estresse oxidativo no organismo de homens praticantes de ciclismo.

O presente estudo contribuiu para a verificação acerca de potenciais benefícios dos cogumelos na alimentação, reforçando a necessidade de maior estímulo à produção e ao consumo, enquanto alimento de fácil desenvolvimento em condições climáticas diversas. Ainda, a utilização de cogumelos obtidos por meio de cultivo orgânico teve sua essencialidade para a verificação da eficiência de *Pleurotus ostreatus* no organismo humano, sem a possibilidade de interferentes, tais como aditivos agrícolas.

A forma de administração dos cogumelos, em cápsulas, contribuiu para a facilidade de consumo, com mínima perda de nutrientes (com ambiente e temperatura de preparo controlados), e maior controle sobre a execução do estudo.

O desenvolvimento de pesquisa com período e datas limitados para as coletas de amostras, haja vista a existência de protocolos estabelecidos para a prevenção e combate à pandemia do Coronavírus (COVID-19), se caracteriza como um dos vieses do projeto, dada a dependência por liberação de locais e execução de projetos com indivíduos. Ainda, a disponibilidade de tempo dos ciclistas e seu interesse pelo estudo (a considerar a forma de abordagem, por meio de publicações em redes sociais) contribuem para a limitação de participantes nesta pesquisa.

O tempo de administração dos cogumelos é mais um fator crucial para a resposta do organismo durante e após a suplementação. Desta forma, o aumento no período de intervenção com *Pleurotus ostreatus* poderia contribuir para a maior efetividade deste enquanto alimento de propriedades antioxidantes.

Dado o disposto, espera-se que novos estudos possam ser realizados, com aumento do número de indivíduos e grupos avaliados, além de diferentes variações entre os fatores tempo e concentração da dose administrada, verificando-se assim os potenciais benefícios que cogumelos podem trazer àqueles que os consomem, expandindo a área de concentração para demais modalidades esportivas, bem como para a população em geral.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687984050163>. Acesso em: 05 de jun 2020.

AGARWAL, S. *et al.* **Nutritional attributes of *Pleurotus* mushroom**. In: SINGH, M. P. *et al.* Incredible World of Biotechnology. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, p. 13-24, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/324965562_Nutritional_attributes_of_Pleurotus_mushroom>. Acesso em: 20 de fev 2020.

AISHAN, M. S.; ROSLI, W. I. W. of Different drying techniques on the nutritional values of oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*). **Sains Malaysiana**, v. 42, n. 7, p. 937–941, 2013. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/83541498.pdf>>. Acesso em: 03 de mar 2020.

AKSENOV, M; MARKERSBERY, W. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, v. 302, n. 2-3, p. 141-145, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11290407/>. Acesso em: 12 de jun 2020.

ALAM, M. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 2, p. 143–152, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016412000357>. Acesso em: 01 de jun 2020.

ANPC - Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos. **O setor de cogumelos**. ANPC, 2018. Disponível em: <<http://www.anpc.org.br/>>. Acesso em: 20/02/2020.

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23 n. 4, p. 629-643, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v23n4/v23n4a13.pdf>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

BAZAN, N. G. **Supply of n-3 polyunsaturated fatty acids and their significance in the central nervous system**. In: Wurtman RJ, Wurtman JJ (eds). *Nutrition and the Brain*. Raven Press, New York, p. 1–24, 1990.

BASU, T. K.; TEMPLE, N. J.; GARG, M. L. **Antioxidants in human health and disease**. London: British Library, 1999.

BEELMAN, R. B.; KALARAS, M. D.; RICHIE, J. P. Micronutrients and bioactive compounds in mushrooms A recipe for healthy aging? **Nutrition Today**, v. 54, n. 1, p. 16–22, 2019. Disponível em: <[https://pennstate.pure.elsevier.com/en/publications/micronutrients-and-bioactive-compounds-in-mushrooms-a-recipe-for->](https://pennstate.pure.elsevier.com/en/publications/micronutrients-and-bioactive-compounds-in-mushrooms-a-recipe-for-). Acesso em: 24 de fev 2020.

BERGENDIOVA, K.; TIBENSKA, E.; MAJTAN, J. Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation, cellular immune response and respiratory tract infections in athletes. **European Journal of Applied Physiology**, v. 11, n. 9, p. 2033-2040, 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21249381/#:~:text=Pleuran%20%28%CE%B2-glucan%20from%20Pleurotus%20ostreatus%29%20supplementation%2C%20cellular%20immune,the%20risk%20of%20upper%20respiratory%20tract%20infections%20%28URTIs%29>>. Acesso em: 08 de out. 2021.

BICALHO, A. C. *et al.* **Importância dos cogumelos (pertencentes ao filo *Basidiomycota*) para o homem e sua distribuição nos diversos biomas do Brasil**. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, 2013. Disponível em: <<http://www.terraBrasilis.org.br/ecotecadigital/pdf/importancia-dos-cogumelos-pertencentes-ao-filo-basidiomycota-para-o-homem-e-sua-distribuicao-nos-diversos-biomas-do-brasil.pdf>>. Acesso em: 18 de fev 2020.

BRASIL. Conselho Nacional da Saúde. **Resolução CNS N°466**, de 12 de dezembro de 2012. Brasília: Conselho Nacional de Saúde, 2013. Disponível em: <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>>. Acesso em: 03 de abr 2020.

CARDWELL, G. *et al.* A Review of Mushrooms as a Potential Source of Dietary Vitamin D. **Nutrients**, v. 10, n. 1498, p. 01-11, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6213178/pdf/nutrients-10-01498.pdf>>. Acesso em: 30 de mar 2020;

CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 58, p. 69–81, 2017. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157517300352>>. Acesso em: 02 de mar 2020.

CHANG, S. T.; WASSER, S. P. **The cultivation and environmental impact of mushrooms.**

Oxford: Oxford Research Encyclopedia, Environmental Science, 2018. Disponível em: <<https://oxfordre.com/environmentalscience/view/10.1093/acrefore/9780199389414.001.0001/acrefore-9780199389414-e-231?print=pdf>>. Acesso em: 19 de fev 2020.

CHENG, S.B. *et al.* **Changes of Oxidative Stress, Glutathione, and Its Dependent Antioxidant Enzyme Activities in Patients With Hepatocellular Carcinoma Before and After Tumor Resection.** PLoS One, v. 12, n. 12, p. 1-10, 2017. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0170016&type=printable>>. Acesso em: 01 de jun 2020.

CONDÉ, V. F.; DE OLIVEIRA, J. E. Z.; DE OLIVEIRA, D. M. F. Farinha de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (cogumelo Hiratake) enriquecido em ferro. **Ciência e Natura**, v.39 n.1, p. 01-06, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/article/view/21437/pdf>. Acesso em: 03 de mar 2020.

DA SILVA, F. O. C.; MACEDO, D. V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 4, p. 320–328, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcdh/v13n4/12.pdf>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

DA SILVA, A. C.; NEUZA, J. Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes Mushrooms: Bioactive Compounds and Antioxidant Properties. *Ciências biológicas e da saúde*, v. 13, p. 375–384, 2011. Disponível em: <<https://fjh.fag.edu.br/index.php/fjh/article/download/89/110>>. Acesso em: 30 de jan 2022.

DA SILVA, M. I. A.; CHAVES, D. F. S. Alimentos antioxidantes em exercícios de *endurance*. **Revista Brasileira de Nutrição Funcional**, v. 15, n. 62, p. 8-15, 2015. Disponível em: <<https://www.vponline.com.br/portal/noticia/pdf/4482eb4efe0efad9ad766e55163568de.pdf>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

DATTA, S.; BAGCHI, D. **Extreme and rare sports:** Performance demands, drivers, functional foods, and nutrition. Boca Raton: Taylor & Francis, 2019. 370p.

DE MENEZES, P. S. *et al.* Vitamina D na prática esportiva: revisão de escopo. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v.12, n.80, p. 1093-1100, 2018. Disponível em: <<http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/view/1575/1149>>. Acesso em: 30 de mar 2020.

DEEPALAKSHMI, K; MIRUNALINI, S. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. **Journal of Biochemical Technology**, n. 5, v. 2, p. 718-726, 2014. Disponível em: <<https://jbiochemtech.com/storage/models/article/NG23jvirki6MsPU83nHuA6CbEMW8XcyYx1abn0BuLtqBOKsnuWPknyki9rj5/pleurotus-ostreatus-an-oyster-mushroom-with-nutritional-and-medicinal-properties.pdf>>. Acesso em: 08 de out 2021.

DOS SANTOS, D. **Estado nutricional, perfil bioquímico e estresse oxidativo em jogadoras de futebol pré e pós o período competitivo**. 2012. 130 f. Tese (Pós Graduação em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP, 2012. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/100875/santos_d_dr_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 29 de mar 2020.

DOS SANTOS, T. R.; COSTA, D. G. A influência da hipovitaminose D sobre o sistema cardiovascular e condicionamento físico cardiorrespiratório. **Rasbran**, v. 9, n. 1, 2018. Disponível em: <<https://www.rasbran.com.br/rasbran/article/viewFile/986/197>>. Acesso em: 30 de mar 2020.

EL SHEIKHA, A. F.; HU, D. M. How to trace the geographic origin of mushrooms? **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 292–303, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418302103>>. Acesso em: 19 de fev 2020.

FALCÃO, L. E. M. Suplementação de cromo associado ao exercício físico. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v.10, n. 57, p. 343-349, 2016. Disponível em: <<http://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/647/558>>. Acesso em: 30 de mar 2020.

FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p.211-218, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-89102009000200001&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 03 de mar 2020.

FCC - Federação Catarinense de Ciclismo. **Filiados 2020**. Lista atualizada 02/06. Joinville: FCC, 2020. Disponível em: <http://www.ciclismosc.com.br/site/documentos/631.pdf>. Acesso em: 05 de jun 2020.

FILAIRE, E. *et al.* Effects of 6 weeks of n-3 fatty acids and antioxidant mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 8, p. 1829-1839, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21222131>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

FOGARTY, M. C. *et al.* Exercise-induced lipid peroxidation: implications for deoxyribonucleic acid damage and systemic free radical generation. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 52, n. 1, p. 35-42, 2011.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. **Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge**. *Clinical chemistry*, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4337382/>>. Acesso em: 04 de out 2020.

FUKAI, T.; USHIO-FUKAI, M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 6, p. 1583-1606, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21473702/>. Acesso em: 02 de jun 2020.

GONÇALVES, L. S. **Efeitos da suplementação da quercetina sobre o rendimento físico em esteira ergométrica e indicadores metabólicos do exercício exaustivo em atletas de futebol**. 2014. 64f. Dissertação (Pós-Graduação em Patologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina. 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/113893/000796053.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 07 de abr 2020.

GONÇALVES, A. O. S. *et al.* Avaliação sensorial e aceitação comercial do cogumelo comestível *Pleurotus florida*. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 4, n. 4, p. 92-98, 2017. Disponível em: <https://periodicosonline.uems.br/index.php/agrineo/article/view/1614/1780>>. Acesso em: 20 de fev 2020.

GUIMARÃES, M. R. M.; VIANNA, L. M. A. Estresse oxidativo e suplementação de antioxidantes na atividade física: uma revisão sistemática. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v. 12, n. 2, p. 155-171, 2013. Disponível em: <<http://editorarevistas.mackenzie.br/index.php/remef/article/view/1447>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**; v. 186, p. 1-85, 1990. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2172697/>. Acesso em: 02 de jun 2020;

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **Journal of Neurochemistry**, v. 59, n. 1, 609-23, 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1402908/>. Acesso em: 02 de jun 2020;

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**, 3ed.. Oxford: Oxford University Press, 1999.

HALLIWELL, B.; CHEAH, I. K.; DRUM, C. L. Ergothioneine, an adaptive antioxidant for the protection of injured tissues? A hypothesis. **Biochem Biophys Res Commun**. V. 470, n. 2, p. 245-250, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26772879>>. Acesso em: 24 de fev 2020.

HELM, C. V. CORADIN, J.H., KESTRING, D.R. **Avaliação da composição química dos cogumelos comestíveis *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Agaricus bisporus portobello*, *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus***. Comunicado Técnico. EMBRAPA, Colombo-PR, 2009. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/578693/1/CT235.pdf>>. Acesso em: 08 de out 2021.

HIBBETT, D. S. *et al.* A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v. 111, n. 5, p. 509-547, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17572334>>. Acesso em: 18 de fev 2020.

HIRSCH, K. R. *et al.* Chronic supplementation of a mushroom blend on oxygen kinetics, peak power, and time to exhaustion. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 12, n. 1, p. 45, 2015. Disponível em: <<https://jissn.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1550-2783-12-S1-P45>>. Acesso em: 04 de mar 2020.

HOSSAIN, M. S. **Essential fatty acid contents of *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* and *Agaricus bisporous***. In: Project Reports of the Faculty of Biological Sciences. Jahangirnagar University, Savar, Bangladesh. 2002.

HOSSAIN, S. *et al.* Dietary mushroom (*Pleurotus ostreatus*) ameliorates atherogenic lipid in hypercholesterolaemic rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 30, n. 7, p. 470-475, 2003. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1440-1681.2003.03857.x>>. Acesso em: 08 de out 2021.

INÁCIO, F. D. *et al.* Proteases of wood rot Fungi with emphasis on the genus *Pleurotus*. **Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International**, v. 15, p. 1-10, 2015. Disponível em: <<http://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2015/290161.pdf>>. Acesso em: 20 de fev 2020.

JERONIMO, D. P. Efeitos da suplementação de picolinato de cromo sobre a concentração da glicemia plasmática durante exercício físico e em repouso. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 12, n. 72, 2018. Disponível em: <<http://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/820>>. Acesso em: 04 de mar 2020.

KALARAS, M.D. *et al.* Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. **Food Chemistry**, v. 233, p. 429-433, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28530594>>. Acesso em: 24 de fev 2020.

KAGIMURA, F. Y. *et al.* Biological activities of derivatized D-glucans: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 588-598, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813014006059>>. Acesso em: 02 de mar 2020.

KIRKMAN, H. N.; GAETANI, G. F. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 32, n. 1, p. 44-50, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17158050/>. Acesso em: 02 de jun 2020.

LAWLER, J. M.; POWERS, S. K.; CRISWELL, D. S. Inducibility of NADP-specific isocitrate dehydrogenase with endurance training in skeletal muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 149, n. 2, p. 177-181, 1993. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8266807/>. Acesso em: 02 de jun 2020.

LAWLER, J. M.; DEMAREE, S. R. Relationship between NADP-specific isocitrate dehydrogenase and glutathione peroxidase in aging rat skeletal muscle. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 122, n. 3, p. 291-304, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11311317/>. Acesso em: 02 de jun 2020.

LEVINE, D. M.; BERENSON, M. L.; STEPHAN, David. **Estatística: Teoria e aplicações usando Microsoft Excel em português**. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

LEVINE, R. L. *et al.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 464-478, 1990. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/007668799086141H>. Acesso em: 19 de mai 2020.

LIGUORI, I. *et al.* Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Interventions in Aging**, v. 13, p. 757-772, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5927356/>. Acesso em: 02 de jun 2020.

LIMA, A. B. *et al.* Hypolipemiant and antioxidant effects of *Eugenia brasiliensis* in an animal model of coconut oil-induced hypertriglyceridemia. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 642-649, 2017.

LOWRY, O. H; ROSEBROUGH, N. J; FARR, A. L; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265–275.

MACHADO, A. E. V. **Cultivo integrado do cogumelo *Pleurotus ostreatus* e tomate (*Solanum lycopersicum*)**. 2019. 78f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Tocantins, Campus Universitário de Gurupi, Gurupi. 2019. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1117453/1/UFTDISSERTACAOMES TRADO.pdf>. Acesso em: 01 de jun 2020.

MACHADO, L. M. **Relação entre estresse oxidativo e depressão em mulheres idosas da cidade de Santa Maria/RS**. 2019. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde e da Vida) - Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Franciscana, Santa Maria. 2019. Disponível em: <http://www.tede.ufn.edu.br:8080/handle/UFN-BDTD/808>. Acesso em: 01 de jun 2020.

MAEDA, S. S. *et al.* Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n. 5, p. 411-433, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302014000500411>. Acesso em: 30 de mar 2020.

MARAY, A. R. M.; MOSTAFA, M. K.; EL-FAKHRANY, A. E. M. Effect of pretreatments and drying methods on physico-chemical, sensory characteristics and nutritional value of oyster mushroom. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 1, p. 1-8 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.13352>>. Acesso em: 03 de mar 2020.

MAJTAN, J. Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*): An effective nutritional supplement against upper respiratory tract infections? **Medicine and Sport Science**, v. 59, p. 57-61, 2013. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/Abstract/341967>>. Acesso em: 04 de mar 2020.

MARGULIS, L.; SCHWARTZ, K. V. **Cinco reinos** - um guia ilustrado dos filós da vida na Terra. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. 524p.

MARKLUND, S. L. Superoxide dismutase isoenzymes in tissues and plasma from new zealand black mice, nude mice and normal balb/c mice. **Mutation Research**, v. 148, n. 1-2, p. 129-134, 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3969077/>. Acesso em: 12 de jun 2020.

MATOS, A. S. F. *et al.* **Cogumelos**: Caça e coleta à mesa. 2015. 103f. Portfólio (Graduação em Tecnologia em Gastronomia) - Faculdade de Ciências da Educação e Saúde (FACES), UniCEUB. 2015. Disponível em: <<https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/235/7673/1/Trabalho%20Final%20Cogumelos%20%281%29.pdf>>. Acesso em: 03 de mar 2020.

MIHARA, M.; UCHIYAMA, M. Determination of Malonaldehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test. **Analytical Biochemistry**, v. 86, n. 1, p. 271-278, 1978. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/655387/>>. Acesso em: 01 de jun 2020;

MIYAJI, C. K.; Cólus, I. M. S. Shiitake, um cogumelo mutagênico ou antimutagênico? **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 22, p. 11-17, 2001. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/272653933_Shiiwake_um_cogumelo_mutagenico_ou_antimutagenico>. Acesso em: 18 de fev 2020.

NETO, J. F. A.; SIVIERO, I. M. P. S.; PADOVANI, R. M. Parâmetros de estresse oxidativo em camundongos submetidos a treinamento de Natação e *overtraining*. **RBPFEEX - Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v. 10, n. 60, p. 460-469, 2016. Disponível em: <http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/view/1005>. Acesso em: 10 de jun 2020.

OBE, S. C.; MSHIGENI, K. **Mushroom farming: Life-changing humble creatures**. Dar es Salaam, Tanzania: Mkuki na Nyota Publishers Ltd, 84 p.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0003269779907383>. Acesso em: 12 de jun 2020.

ONDEI, L. S. *et al.* Lipid peroxidation and antioxidant capacity of G6PD-deficient patients with A-(202G>A) mutation. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 4, p. 1345-1352, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19937590/>. Acesso em: 01 de jun 2020.

ONDEI, L. S.; TERESA, F. B.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Avaliação de fatores preditivos de estresse oxidativo em pessoas saudáveis. **Biotemas**, v. 27, n. 3, p. 167-173, 2014. Disponível em: <https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2014v27n3p167/27672>. Acesso em: 01 de jun 2020.

PANSANI, M. C. **Efeito da suplementação de cromo na resistência insulínica, na dislipidemia, na inflamação e no estresse oxidativo de pessoas HIV-positivo com lipodistrofia**. 2017. 92f. Tese (Pós-Graduação em Ciências Médicas) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 2017. Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17138/tde-24042018-174804/publico/MARIELECASTILHOPANSANI.pdf>>. Acesso em: 04 de mar 2020.

PAZZA, A. C. V. *et al.* Composição nutricional e propriedades funcionais fisiológicas de cogumelos comestíveis: *Agaricus brasiliensis* e *Pleurotus ostreatus*. **FAG Journal of**

Health, v. 1, n. 3, p. 240-265, 2019. Disponível em:
<<https://fjh.fag.edu.br/index.php/fjh/article/view/89/110>>. Acesso em: 20 de fev 2020.

PERCÁRIO, S. Prevenção do estresse oxidativo na síndrome de isquemia e reperfusão renal em ratos com suplementação nutricional com antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 259-267, 2010. Disponível em:
<<https://www.scielo.br/pdf/rn/v23n2/v23n2a09>>. Acesso em: 01 de jun 2020.

PEDROSO, C. O.; VICENZI, K.; ZANETTE, C. Efeitos do estresse oxidativo e o uso de suplementos entre atletas. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 9, n. 53, p. 480-490, 2015. Disponível em:
<<http://www.rbne.com.br/index.php/rbne/article/view/575/504>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

PETRY, E. R. *et al.* Suplementações nutricionais e estresse oxidativo: implicações na atividade física e no esporte. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**, v. 35, n. 4, p. 1071-1092, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbce/v35n4/17.pdf>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

PIEREZAN, B. *et al.* Análise do perfil oxidativo de diferentes amostras biológicas de pacientes com lesão de ligamento cruzado anterior. **Fisioterapia e pesquisa**, v. 24, n. 2, p. 198-204, 2017. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/fp/v24n2/2316-9117-fp-24-02-00198.pdf>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

PRADO, R.; FURLANI, Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 154–157, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/250045331_Valor_nutricional_de_cogumelos_comestiveis>. Acesso em: 08 de out 2021.

PRYOR, W. A. Oxy-radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes, and Reactions. **Annual Review of Physiology**, v. 48, p. 657, 667, 1986. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3010829/>. Acesso em: 01 de jun 2020.

RAVI, B. *et al.* Evaluation of antidiabetic potential of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in alloxan-induced diabetic mice. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 35, n. 1, p. 101-109, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22867521/>>. Acesso em: 08 de out 2021.

RATHORE, H., PRASAD, S., & SHARMA, S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. **PharmaNutrition**, v. 5, n. 2, p. 35–46, 2017. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/catalog/5633501>>. Acesso em: 18 de fev 2020.

REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods of Enzymology**, v. 233, p. 357-363, 1994. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687994330417?via%3Dihub>. Acesso em: 12 de jun 2020.

RICARDO, S. *et al.* Determinação do ergosterol no cogumelo ostra (*Pleurotus ostreatus*) cultivado em borras de café e palha de trigo. **Observações Boletim Epidemiológico**, v. 2, n. 18, p. 32-35, 2017. Disponível em: <http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/4715/1/Boletim_Epidemiologico_Observacoes_N18_2017_artigo7.pdf>. Acesso em: 18 de fev 2020.

ROMANO, L.; BORGES, I. P. A suplementação de glutamina não reverte a imunossupressão induzida pelo exercício. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v.1, n.1, p.65-78, 2007. Disponível em: <<http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/view/7>>. Acesso em: 29 de mar 2020.

RONCERO-RAMOS, I. *et al.* Effect of different cooking methods on nutritional value and antioxidant activity of cultivated mushrooms. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 68, n. 3, p. 287-297, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27760471>>. Acesso em: 19 de fev 2020.

ROSSI, P. *et al.* Improving training condition assessment in endurance cyclists: Effects of *Ganoderma lucidum* and *Ophiocordyceps sinensis* dietary supplementation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1-11, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3995149/pdf/ECAM2014-979613.pdf>>. Acesso em: 03 de mar 2020.

ROYSE, D. **A global perspective on the high five: Agaricus, Pleurotus, Lentinula & Flammulina**. Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Pennsylvania, 2014. Disponível em: <<http://www.wsmbmp.org/1/01.pdf>>. Acesso em: 19 de fev 2020.

SANO, P. T. *et al.* Cogumelos, bolores e outros fungos - o poder de transformar até esterco em coisas gostosas de comer. **Biologia botânica**. 6º módulo. São Paulo. 2004.

SANTOS, A. C. **Resíduo de cogumelo no crescimento e nutrição de mudas de cacau**. 2019. 27f. Monografia (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. 2019.

SÃO PAULO. Secretaria da Agricultura e Abastecimento da Cidade de São Paulo. **Estado de São Paulo é o maior produtor de cogumelos do país**. São Paulo: Secretaria da Agricultura e Abastecimento da Cidade de São Paulo, 2019. Disponível em: <<https://www.agricultura.sp.gov.br/noticias/estado-de-sao-paulo-e-o-maior-produtor-de-cogumelos-do-pais-importante-alternativa-de-geracao-de-renda-aos-agricultores/>>. Acesso em: 19 de fev 2020.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Cogumelo in natura**: oportunidades para pequenas produções. SEBRAE, 2018. Disponível em: <<http://www.sebraemercados.com.br/cogumelo-in-natura-oportunidades-para-pequenas-producoes/>> Acesso em: 02 de jun 2020.

SCHNEIDER, C. D. *et al.* Efeito do exercício de ultrarresistência sobre parâmetros de estresse oxidativo. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 15, n. 2, p. 89-92, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbme/v15n2/v15n2a01.pdf>. Acesso em: 01 de jun 2020.

SOCCOL, C. R. *et al.*, 2017. **Cogumelos**: uma fonte promissora de compostos ativos para o desenvolvimento de bioprodutos farmacêuticos e . In: RESENDE, R. R.; SOCCOL, C. R.; DE FRANÇA, L. R. Biotecnologia aplicada à agro&indústria: fundamentos e aplicações. Vol. 4. São Paulo: Blucher, 2018. p. 315-360. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/313492333_Cogumelos_uma_fonte_promissora_de_compostos_ativos_para_o_desenvolvimento_de_produtos_farmacuticos_e_nutraceuticos>. Acesso em: 18 de fev 2020.

SOUZA, S. I. B. M. T. **Suplementação de açaí em ciclistas: efeitos sobre marcadores inflamatórios, oxidativos e capacidade aeróbia**. 2018. 72f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Araraquara, 2018. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/180713/souza_sibmt_dr_arafcf_int.pdf?sequence=6&isAllowed=y>. Acesso em: 08 de out 2021.

STRAUSS, J.A.; WILLEMS, M. E. T.; SHEPHERD, S. O. New Zealand blackcurrant extract enhances fat oxidation during prolonged cycling in endurance-trained females. **European Journal of Applied Physiology**, v. 118, n. 6, p. 1265-1272, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29619595>>. Acesso em: 30 de mar 2020;

TOLERA, K. D.; ABERA, S. Nutritional quality of Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) as affected by osmotic pretreatments and drying methods. **Food Science and Nutrition**, v. 5, n. 5, p. 989-996, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5608979/>>. Acesso em: 20 de fev 2020.

TRZESNIAK, D. R. F. **Modelagem quântica de inibidores enzimáticos**. 2002. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade de São Paulo, Instituto de Física. São Paulo, 2002. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/43/43134/tde-26062002-143722/pt-br.php>. Acesso em: 10 de jun 2020.

VASCONCELOS, S.M.L. *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30, n.5, p. 1323-1338, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/qn/v30n5/a46v30n5.pdf>. Acesso em: 01 de jun 2020.

VIEIRA, C.; GONÇALVES, J. F. C.; MARQUES, J. M .C. **Os recursos hídricos e os ecossistemas fluviais**. In: HONRADO, J. Aboboreira: património, natureza e paisagem. Porto, Portugal: Universidade do Porto, 2014. p. 136-148. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/265784944_Os_recursos_hidricos_e_os_ecosistemas_fluviais. Acesso em: 06 de jun 2020.

VINCENT, H. K.; INNES, K. E.; VINCENT, K. R. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 9, n. 6, p. 813-839, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17924865/>. Acesso em: 02 de jun 2020.

VP Centro de Nutrição Funcional. **Overtraining e o sistema imune**: o papel da nutrição. VP Centro de Nutrição Funcional, 2019. Disponível em: <<https://www.vponline.com.br/portal/noticia/1095/overtraining-e-o-sistema-imune-o-papel-da-nutricao>>. Acesso em: 04 de mar 2020.

WALSH, N.P. *et al.* Position statement part two: Maintaining immune health. **Exercise Immunology Review**; v. 17, p. 64-103, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21446353>>. Acesso em: 04 de mar 2020.

WEIGAND-HELLER, A. J.; KRIS-ETHERTON, P. M.; BEELMAN, R. B. The bioavailability of ergothioneine from mushrooms (*Agaricus bisporus*) and the acute effects on antioxidant capacity and biomarkers of inflammation. **PrevMed**, v. 54, p. 75-78, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22230474>>. Acesso em: 24 de fev 2020.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods of Enzymology**, v. 77, p. 325-333, 1981. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7329310/>. Acesso em: 12 de jun 2020.

WOOD, L. **Global mushroom market 2018-2026**: the market is expected to grow at a CAGR of 7.9%. Research and Markets, 2018. Disponível em: <<https://www.prnewswire.com/news-releases/global-mushroom-market-2018-2026-the-market-is-expected-to-grow-at-a-cagr-of-7-9-300712332.html>>. Acesso em: 19 de fev 2020.

WALSH, N. P. Nutrition and athlete immune health: New perspectives on an old paradigm. **Sports Medicine**, v. 49, n. 2, p. 153-168, 2019. Disponível em: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s40279-019-01160-3.pdf>>. Acesso em: 07 de abr 2020.

YOUSSEF, H.; SALEM, H. Oxidative Stress Parameters in Patients with Breast Cancer before and after Radiotherapy. **Egyptian Journal of Radiation Sciences and Applications**, v. 32, n. 2, p. 177-185, 2019. Disponível em: https://ejrsa.journals.ekb.eg/article_54302.html. Acesso em: 01 de jun 2020.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVILLE - Universidade da Região de Joinville
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Conforme Resolução nº 466 de 10 de outubro de 2012 - Conselho Nacional de Saúde “Efeitos da Suplementação de *Pleurotus* spp. Sobre o Perfil Bioquímico e Estresse Oxidativo em Ciclistas”

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada “Efeitos da suplementação de *Pleurotus* spp. sobre o perfil bioquímico e estresse oxidativo em ciclistas”, coordenada por Nathália Jahn, sob orientação de Daniela Delwing de Lima. O objetivo deste estudo é analisar os efeitos da suplementação de cogumelos *Pleurotus ostreatus* sobre marcadores de estresse oxidativo e enzimas antioxidantes, bem como de indicadores bioquímicos (proteínas totais, albumina, glicose, triglicérides, colesterol total, HDL-C e LDL-C), em ciclistas da cidade de Joinville-SC. Como participante desta pesquisa, você fará o uso de suplemento contendo cogumelos durante o período de 14 (quatorze) dias, recebendo orientações para a forma e horário de consumo, e realizará testes sanguíneos nos períodos antes e após a suplementação, tendo sua participação durante os 14 dias de suplementação e coletas.

Esta pesquisa tem como benefícios, o conhecimento acerca dos efeitos da suplementação com cogumelos da espécie *Pleurotus ostreatus*, que podem possibilitar a você, participante, a redução de efeitos deletérios gerados por exercícios extenuantes, como a produção de radicais livres e estresse oxidativo, e menor fadiga e presença de dores musculares, com potencial aumento da capacidade desportiva.

Ao participar desta pesquisa, você está contribuindo para o conhecimento acerca dos efeitos citados acima, que se estendem não apenas aos atletas, como também para a sociedade em geral. Esta poderá se beneficiar com o efeito antioxidante de cogumelos comestíveis na redução de radicais livres e estresse oxidativo no organismo, evitando ou minimizando o acometimento de doenças relacionadas a esses fatores, além de garantir aumento do aporte nutricional, devido à presença de nutrientes nesse alimento.

O meio ambiente é outro beneficiado, visto que a produção de cogumelos, de fácil cultivo e baixo custo, contribui para a decomposição da matéria orgânica, reduzindo a quantidade de resíduos depositados no solo. O presente estudo também terá a possibilidade de contribuir para com a comunidade científica, sendo que, a partir da coleta dos dados, será realizada a análise destes e será elaborado um artigo científico, demonstrando os resultados da pesquisa.

Com sua participação nesta pesquisa, você estará exposto a riscos médios, em que os procedimentos de coleta de sangue, apesar de pouco invasivos, podem gerar rompimentos de vasos sanguíneos e pequeno hematoma no local de aplicação da agulha, causar-lhe tontura, queda de pressão e/ou desmaio. Para que isto seja evitado, as coletas serão realizadas por um profissional capacitado, contando com materiais adequados e em local apropriado para esta atividade.

Ainda, sob qualquer intercorrência, você será encaminhado a atendimento especializado pelo pesquisador responsável, para a resolução de qualquer problema apresentado.

O consumo das cápsulas pode levar à dificuldade de ingestão dos suplementos, bem como engasgos. Para que se evitem tais ocorrências, você será orientado a fazer uso do comprimido junto à ingestão de água. Os pesquisadores lhe garantem que não haverá exposição de sua imagem ou dados que possam lhe causar algum dano, sendo os dados coletados sigilosos.

Sua participação é voluntária e você terá a liberdade de se recusar a responder quaisquer perguntas, ou a realizar alguma das atividades (coletas sanguíneas ou suplementação), que lhe ocasionem constrangimento de alguma natureza. Você também poderá desistir da pesquisa a qualquer momento, sem que a recusa ou a desistência lhe acarrete qualquer prejuízo, e terá livre acesso aos resultados do estudo e garantido esclarecimento antes, durante e após a pesquisa.

É importante saber que não há despesas pessoais para você, em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação, pois a mesma é voluntária após assinatura deste documento. No entanto, o pesquisador garante indenização por quaisquer danos causados a você, participante, no decorrer da pesquisa.

Você terá garantia de acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas por meio de telefone e e-mails informados neste documento, durante toda a execução da pesquisa. A pesquisadora responsável por esta investigação é Nathália Jahn, localizada em: Rua Iriú, nº 3169, de segunda a sexta-feira, das 10 horas às 17 horas (horário de Brasília). Contato: (47) 99688-5952; e-mail: nathalia.jahn@univille.br.

O acompanhamento será realizado por meio de mensagens de texto, em aplicativo de mensagens (WhatsApp®), ou via telefone (caso a primeira opção encontre-se indisponível), para lembrá-lo da suplementação, bem como verificar a possível presença de intercorrências e/ou dificuldades existentes para a execução da suplementação, sendo recurso pelo qual poderá realizar questionamentos e receber a assistência necessária durante todo o período de duração da pesquisa.

As orientações e assistência também serão realizadas anteriormente e nas datas determinadas para os testes sanguíneos. Após a realização da coleta de dados, e com a conclusão do estudo, o pesquisador responsável se compromete a fornecer a você uma devolutiva quanto aos resultados encontrados.

É garantido o sigilo e assegurada a privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa. Os resultados deste estudo poderão ser apresentados por escrito ou oralmente em congressos e revistas científicas, sem que os nomes dos participantes sejam divulgados.

A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Por favor, guarde este TCLE assinado por, no mínimo, cinco anos, período em que os dados ficarão sob posse e guarda do pesquisador responsável. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Univille, no endereço Rua Paulo Malschitzki, 10, Bairro Zona Industrial, Campus Universitário, CEP 89.219-710 - Joinville/SC, telefone (47) 3461-9235, em horário comercial, de segunda a sexta, ou pelo e-mail comitetica@univille.br.

Este termo possui duas vias, sendo que uma via ficará em posse do pesquisador responsável e outra via com você, participante. Após ser esclarecido sobre as informações da pesquisa, no caso de aceitar fazer parte do estudo, rubriche todas as páginas deste termo de consentimento de participação (impresso em duas vias de 3 páginas cada), e assine na última página, nos locais indicados ao participante.

Nathália Jahn

Pesquisador Responsável

Daniela Delwing de Lima

Orientadora

Consentimento de Participação.

Euconcordo voluntariamente em participar da pesquisa intitulada “Efeitos da suplementação de *Pleurotus* spp. sobre o perfil bioquímico e estresse oxidativo em ciclistas”, conforme informações contidas neste TCLE.

Joinville, ___/___/___ .

Assinatura do participante

APÊNDICE B - Orientações ao participante



ORIENTAÇÕES GERAIS

PESQUISA - EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE *Pleurotus* spp. SOBRE O PERFIL BIOQUÍMICO E ESTRESSE OXIDATIVO EM CICLISTAS

Universidade da Região de Joinville

Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

Caro atleta,

Sua participação neste projeto é muito importante. Porém, para que possamos verificar a efetividade da suplementação de cogumelos *Pleurotus* sobre o estresse oxidativo e perfil bioquímico, é necessário que alguns passos sejam seguidos de maneira adequada. Portanto, seguem, abaixo, orientações quanto à forma de ingestão do suplemento, bem como requisitos para as coletas de sangue:

ORIENTAÇÕES GERAIS

- **ALIMENTAÇÃO:** Durante o período da pesquisa, procure não alterar de forma significativa sua dieta, consumindo os alimentos de costume. Atente-se, apenas, para as recomendações constadas no item 4, dos CRITÉRIOS PARA AS COLETAS SANGUÍNEAS (descrito abaixo), referente a alimentos a evitar nos períodos anteriores às coletas;

- **TREINOS:** No tempo proposto para a pesquisa, procure não alterar seu plano de treinos, atentando-se para as recomendações constadas no item 2, dos CRITÉRIOS PARA AS COLETAS SANGUÍNEAS (descrito abaixo), referente ao tempo mínimo de 24 horas do último treino, em relação às coletas de dados;

- **MEDICAÇÃO E SUPLEMENTAÇÃO:** Evite, durante o tempo de pesquisa, iniciar o uso de quaisquer medicamentos e suplementos que possuam

ingredientes como: cafeína, vitamina C, polifenóis, e guaraná, além de outros com característica antioxidante;

- **ASSISTÊNCIA E ACOMPANHAMENTO:** O acompanhamento será realizado por meio de mensagens de texto, em aplicativo de mensagens (WhatsApp®), ou via telefone (caso a primeira opção encontre-se indisponível), para lembrá-lo da suplementação, bem como verificar a possível presença de intercorrências e/ou dificuldades existentes para a execução da suplementação, sendo recurso pelo qual poderá realizar questionamentos e receber a assistência necessária durante todo o período de duração da pesquisa.

As orientações e assistência também serão realizadas anteriormente e nas datas determinadas para os testes sanguíneos.

CRITÉRIOS PARA A ADMINISTRAÇÃO DO SUPLEMENTO

- **QUANTIDADE:** 6 cápsulas por dia, por um período de 14 dias;

- **HORÁRIO DE ADMINISTRAÇÃO:** 3 cápsulas pela manhã, com 30 minutos de antecedência da primeira refeição, em jejum, e outras 3 cápsulas com 30 minutos de antecedência à última refeição.

CRITÉRIOS PARA AS COLETAS SANGUÍNEAS

1. Esteja em jejum de 12 horas, não consumindo alimentos ou bebidas nesse período, incluindo água;
2. Não pratique atividades físicas nas 24 horas antecedentes ao período das coletas;
3. Compareça ao Anfiteatro 1 da UNIVILLE, localizado na rua Paulo Mauschwitzki, 10 – Zona Industrial Norte, Joinville – SC, bloco A, com 30 minutos de antecedência (horário a combinar), para as coletas.

ATENÇÃO! A NÃO realização de alguma das orientações envolverá automática exclusão da pesquisa. Por favor, leia-as com atenção. Em caso

de dúvidas, entre em contato com a pesquisadora responsável, Nathália Jahn, pelo telefone: (47) 99688-5952, ou e-mail.

Nathália Jahn
Pesquisadora Responsável

Daniela Delwing de Lima
Orientadora

Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação, autorizo a Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE) a disponibilizar em ambiente digital institucional, Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/IBICT) e/ou outras bases de dados científicas, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o texto integral da obra abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data 24/05/2022

1. Identificação do material bibliográfico: () Tese Dissertação () Trabalho de Conclusão

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Autor: Nathália John

Orientador: Valério Dowling de Lima Coorientador: -

Data de Defesa: 01/04/2022

Título: Efeitos da Suplementação de Pleurotus ostreatus sobre o perfil bioquímico e estresse oxidativo em cadáveres

Instituição de Defesa: Universidade da Região de Joinville - Univille

3. Informação de acesso ao documento:

Pode ser liberado para publicação integral Sim () Não

Havendo concordância com a publicação eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese, dissertação ou relatório técnico.

Nathália John
Assinatura do autor

Joinville, 24 de maio/2022
Local/Data