

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Nutrição**  
**Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos**



Dissertação

**Ação do cogumelo *Pleurotus ostreatus* sobre a regulação glicêmica em camundongos C57BL/6 saudáveis**

**Fabício Tabetião Degrandis**

Pelotas, 2021

**Fabício Tabelaio Degrandis**

**Ação do cogumelo *Pleurotus ostreatus* sobre a regulação glicêmica em camundongos C57BL/6 saudáveis**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Schenkel

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

D321a Degrandis, Fabrício Tabelião

Ação do cogumelo *Pleurotus ostreatus* sobre a regulação glicêmica em camundongos C57BL/6 saudáveis / Fabrício Tabelião Degrandis ; Paulo Cavalheiro Schenkel, orientador. — Pelotas, 2021.

52 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Glicose sanguínea. 2. Ingestão alimentar. 3. Insulina.  
4. *Pleurotus*. I. Schenkel, Paulo Cavalheiro, orient. II. Título.

CDD : 641.1

Fabício Tabelião Degrandis

**Ação do cogumelo *Pleurotus ostreatus* sobre a regulação glicêmica em camundongos C57BL/6 saudáveis**

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 5 de abril de 2021

Banca examinadora:

.....  
Prof. Dr. Paulo Cavalheiro Schenkel (Orientador)

Doutor em Ciências Biológicas: Fisiologia pela Universidade Federal do Rio grande do Sul

.....  
Prof. Dra. Simone Pieniz

Doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

.....  
Prof. Dr. Patrick Turck

Doutor em Ciências Biológicas: Fisiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

.....

Prof. Dra. Elizabeth Helbig

Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

**Dedico este trabalho aos meus filhos, Joaquim e Manuela, tudo que faço é pensando em vocês. Dedico também aos meus pais, João e Angelita, vocês me ensinaram a ser o que sou.**

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador Professor Paulo Schenkel, que em cada parágrafo, linha e letra deste trabalho me motivou desde o início. Por acreditar em mim e no meu potencial.

Às minhas irmãs Letícia e Débora, que abdicaram do seu tempo para cuidar dos meus filhos, para que assim eu pudesse terminar este trabalho.

A cada professor que tive a honra de conhecer, o Brasil precisa e sempre vai precisar de vocês.

Obrigado.

*“Mas lembre-se, aconteça o que aconteça, nada como um dia após o outro dia” (Racionais Mc's).*

## Resumo

DEGRANDIS, Fabrício Tabelaio. **Ação do cogumelo *Pleurotus ostreatus* sobre a regulação glicêmica em camundongos C57BL/6 saudáveis.** Orientador: Paulo Schenkel. 2021. 52f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos. Faculdade de Nutrição. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

Os cogumelos são considerados “superalimentos” devido às suas várias propriedades medicinais. Dentre eles, a espécie *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*) merece destaque por ser a espécie de cogumelos mais cultivada e utilizada na culinária da região sul do Rio Grande do Sul, por possuir diversos compostos bioativos e por apresentar potencial sobre a regulação da glicemia. Neste contexto, a utilização de cogumelos como alternativa não medicamentosa parece promissora em atenuar a resistência insulínica, um distúrbio do metabolismo glicídico relacionado com diversas doenças. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do *P. ostreatus* sobre a glicemia e a sensibilidade à insulina de camundongos. Para os experimentos foram utilizados camundongos C57BL/6 saudáveis com aproximadamente 60 dias oriundos do biotério central da Universidade Federal de Pelotas. Como ponto de partida, realizamos um estudo piloto para determinar a influência aguda *in vivo* de diferentes doses de extrato de *P. ostreatus* (500, 1000 e 2000 mg/kg) sobre a glicemia basal dos camundongos em jejum de 4h. Não foram observadas diferenças significativas ao longo da curva glicêmica. Desta forma, optamos por utilizar no segundo experimento a maior concentração (2000 mg/kg) para analisar a influência do extrato sobre o teste de tolerância oral a glicose (TTOG). O extrato foi administrado por gavagem e após 60 minutos foi efetuada administração de glicose 2g/kg e mensurada a glicemia nos tempos 0, 30, 60 e 90 minutos. Nesse experimento pudemos observar uma maior glicemia no grupo em que o extrato de *P. ostreatus* foi administrado previamente em relação ao controle. Num terceiro experimento, separamos os animais em 4 grupos (n=8/cada): Controle; *P. ostreatus* 500 mg/kg; *P. ostreatus* 1000 mg/kg; *P. ostreatus* 2000 mg/kg. Para isso o extrato foi preparado numa concentração de 150 mg/mL e administrado entre 9h-10h conforme a dosagem pré-estabelecida por gavagem durante 4 semanas. O grupo controle foi submetido aos mesmos procedimentos, porém recebeu solução de NaCl 0,9%. Semanalmente, o peso corporal e a ingestão alimentar e hídrica foram mensurados. Após 4 semanas, os animais foram submetidos ao teste de sensibilidade à insulina (TTI), anestesiados com isoflurano e eutanasiados por decapitação. Não foram observadas diferenças significativas no peso corporal. A ingestão alimentar foi significativamente reduzida no grupo *P. ostreatus* 500 mg/kg na primeira semana e no grupo *P. ostreatus* 1000 mg/kg na segunda semana. Já a ingestão hídrica foi significativamente reduzida no grupo *P. ostreatus* 2000 mg/kg na primeira semana, mas depois recuperada nas demais semanas. Com relação à sensibilidade insulínica, verificamos que o grupo *P. ostreatus* 500 mg/kg apresentou maior sensibilidade em relação aos demais grupos. Embora não significativo, a constante de decaimento da glicose apresentou tendência de elevação nos grupos *P. ostreatus* 500 mg/kg e 1000 mg/kg. Neste contexto, o presente estudo demonstrou que o cogumelo da espécie *Pleurotus ostreatus* aumenta a sensibilidade à insulina e, assim, apresenta grande potencial para ser utilizado na prevenção e/ou tratamento do *Diabetes Mellitus*. Neste contexto, a dose de 500mg/kg foi mais efetiva na regulação glicêmica, além de não ter influenciado no ganho de peso, na ingestão alimentar e na ingestão de água ao final de quatro semanas.

Palavras-chave: Glicose sanguínea. Ingestão alimentar. Insulina. *Pleurotus*.

## Abstract

DEGRANDIS, Fabrício Tabelaão. ***Pleurotus ostreatus* improve the insulin sensitivity in healthy C57BL/6 mice.** Advisor: Paulo Schenkel. 2021. 52p. Dissertation (Master in Nutrition and Food) - Graduate Program in Nutrition and Food, Faculty of Nutrition, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Mushrooms are considered “superfoods” due to their various medicinal properties. Among them, the species *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*) is noteworthy for being the most cultivated and used mushroom species in the cuisine of the southern region of Rio Grande do Sul, for having several bioactive compounds and for having potential for regulating blood glucose. In this context, the use of mushrooms as a non-medicated alternative seems promising in attenuating insulin resistance, a disorder of glucose metabolism related to several diseases. Thus, the aim of the present study was to evaluate the influence of *P. ostreatus* on the blood glucose and insulin sensitivity of mice. For the experiments, healthy C57BL/6 mice with approximately 60 days from the central vivarium of the Federal University of Pelotas were used. As a starting point, we carried out a pilot study to determine the acute in vivo influence of different doses of *P. ostreatus* extract (500, 1000 and 2000 mg/kg) on the basal glycemia of the 4-hour fasting mice. No significant differences were observed along the glycemic curve. Thus, we chose to use the highest concentration in the second experiment (2000 mg/kg) to analyze the influence of the extract on the oral glucose tolerance test (OGTT). The extract was administered by gavage and after 60 minutes glucose was administered 2g/kg and blood glucose was measured at times 0, 30, 60 and 90 minutes. In this experiment we were able to observe a higher glycemia in the group in which *P. ostreatus* extract was previously administered in relation to the control. In a third experiment, we separated the animals into 4 groups (n = 8): Control; *P. ostreatus* 500 mg/kg; *P. ostreatus* 1000 mg/kg; *P. ostreatus* 2000 mg/kg. For this, the extract was prepared in a concentration of 150 mg/mL and administered between 9am-10am according to the pre-established dosage by gavage for 4 weeks. The control group underwent the same procedures, but received a 0.9% NaCl solution. The body weight, food and water intake were measured weekly. After 4 weeks, the animals were submitted to the insulin sensitivity test (ITT), anesthetized with isoflurane and euthanized by exsanguination. There were no significant differences in body weight. Food intake was significantly reduced in the *P. ostreatus* 500 mg/kg group in the first week and in the *P. ostreatus* 1000 mg/kg group in the second week. Water intake was significantly reduced in the *P. ostreatus* 2000 mg/kg group in the first week, but later recovered in the other weeks. With regard to insulin sensitivity, we found that the group *P. ostreatus* 500 mg/kg showed greater sensitivity compared to the other groups. Although not significant, the glucose decay constant showed an upward trend in the *P. ostreatus* 500 mg/kg and 1000 mg/kg groups. In this context, the present study demonstrated that the mushroom of the species *Pleurotus ostreatus* increases insulin sensitivity and, therefore, has great potential to be used in the prevention and/or treatment of diabetes mellitus. In this context, the dose of 500 mg/kg was more effective in glycemic regulation, in addition to having no influence on weight gain, food intake and water intake at the end of four weeks.

Keywords: Blood glucose. Food intake. Insulin. *Pleurotus*

## Lista de figuras

|          |  |    |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Curva glicêmica com extrato de <i>P. ostreatus</i> administrado em diferentes concentrações por via oral | 32 |
| Figura 2 | Glicemia após 60 minutos de administração de <i>P. ostreatus</i> (2000mg/kg)                             | 33 |
| Figura 3 | Influência do <i>P. ostreatus</i> no teste de tolerância oral à glicose (TTOG)                           | 34 |
| Figura 4 | Variação do peso corporal ao longo de quatro semanas de tratamento                                       | 35 |
| Figura 5 | Análise da ingestão alimentar ao longo de quatro semanas experimentais                                   | 36 |
| Figura 6 | Análise da ingestão de água ao longo de quatro semanas experimentais                                     | 37 |
| Figura 7 | Teste de tolerância à insulina ao final do período experimental  | 38 |
| Figura 8 | Constante do decaimento da glicemia (KITT)   | 39 |

## Lista de abreviaturas e siglas

|                     |  |
|---------------------|--|
| CIOMS               | <i>Council for International Organizations of Medical Sciences</i> |
| KITT                | Constante do decaimento de glicemia                                |
| NACL                | Cloreto de Sódio   |
| <i>P. ostreatus</i> | <i>Pleurotus ostreatus</i>   |
| RI                  | Resistência insulínica   |
| TQ                  | Timoquinona  |
| TTI                 | Teste de tolerância à insulina                                     |
| TTOG                | Teste de tolerância oral à glicose                                 |

## Sumário

|   |    |
|---|----|
| <b>1 Introdução</b> .....   | 16 |
| <b>2 Objetivos</b> .....  | 19 |
| 2.1 Objetivo geral.....   | 19 |
| 2.2 Objetivos específicos.....  | 19 |
| <b>3 Revisão bibliográfica</b> .....  | 20 |
| <b>4 Materiais e métodos</b> .....  | 27 |
| 4.1 Local de realização.....  | 27 |
| 4.2 Obtenção do extrato e tratamento com <i>Pleurotus ostreatus</i> .....                 | 27 |
| 4.3 Considerações éticas.....   | 28 |
| 4.4 Cálculo do Tamanho Amostral.....  | 28 |
| 4.5 Animais.....  | 28 |
| 4.6 Tratamento com <i>Pleurotus ostreatus</i> .....                                       | 29 |
| 4.6.1 Peso corporal e ingestão alimentar e de água.....                                   | 30 |
| 4.6.2 Teste de tolerância à insulina (TTI).....   | 30 |
| 4.6.3 Constante de decaimento da glicemia (KITT).....                                     | 30 |
| 4.7 Eutanásia.....  | 30 |
| 4.8 Descarte de materiais biológicos e químicos.....                                      | 31 |
| 4.9 Análise Estatística.....  | 31 |
| <b>5 Resultados</b> .....   | 32 |
| 5.1 Resultados do estudo piloto.....  | 32 |
| 5.1.1 Determinação da ação aguda do <i>P. ostreatus</i> sobre a glicemia.....             | 32 |
| 5.1.2 Influência do <i>P. ostreatus</i> no teste de tolerância oral à glicose (TTOG)..... | 32 |
| 5.2 Resultado do tratamento com <i>P. ostreatus</i> .....                                 | 35 |
| 5.2.1 Peso corporal e ingestão alimentar e de água.....                                   | 35 |
| 5.2.2 Teste de tolerância à insulina (TTI).....   | 37 |
| <b>6 Discussão</b> .....  | 39 |
| <b>7 Conclusão</b> .....  | 45 |
| <b>Referências</b> .....  | 46 |

## 1 Introdução

O reino fungi abrange uma enorme diversidade de espécies, estimando-se que existam de 500 mil a 5 milhões de espécies de fungos distintos. Dentre estes destacam-se os cogumelos com aproximadamente 2000 espécies com propriedades terapêuticas sendo cerca de 300 espécies comestíveis, 30 espécies domesticadas e 10 espécies comercializadas. Além de serem considerados iguarias na culinária mundial, apresentam cerca de 130 funções farmacológicas diferentes, utilizados comumente para fins medicinais como pela prática empírica milenar em países asiáticos (CHANG; WASSER, 2018, RATHORE et al., 2017, SÁNCHEZ, 2010).

A Ásia é a maior produtora de cogumelos no mundo, seguida pela Europa e Estados Unidos (FAO, 2021). No Brasil, os dados de produção, consumo alimentar e utilização medicinal ainda são escassos, o que pode estar atrelado a uma questão cultural ou até mesmo a falta de subsídios para sua produção em grande escala.

Os cogumelos são considerados alimentos funcionais por apresentarem compostos químicos com efeitos imunomoduladores, anti-hipertensivos, anti-obesogênicos, antioxidantes, anticancerígenos, entre outras. Dentre os macronutrientes, os cogumelos apresentam um bom aporte proteico e de fibras alimentares, além de serem considerados um alimento com baixo teor energético. Quanto aos micronutrientes destacam-se a vitamina B2, potássio, ferro e zinco (CHANG; WASSER, 2018, GOGAVEKAR et al., 2014, SARTORI et al., 2014).

Somado a isso, destacam-se por serem boa fonte de antioxidantes exógenos pelo fato de conterem em seu conteúdo compostos fenólicos, principalmente o ácido gálico e o ácido cafeico, os quais apresentam potencial capacidade de minimizar a peroxidação lipídica (RATHORE et al., 2017). Além disso, a presença de beta-glucanas, peptídeos e proteínas bioativas nos cogumelos reforçam seu potencial de prebiótico sobre a imunomodulação e ação antitumoral (MUSZYŃSKA et al., 2018).

Dentre vários cogumelos, os do gênero *Pleurotus* têm sido bastante utilizados em pesquisas científicas de forma *in natura*, na forma de extratos e com seus compostos isolados (WASSER, 2018). Dentro deste gênero, destacamos a espécie *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*), a qual já foi reportada na literatura por possuir diversos

compostos bioativos e, assim como outras espécies de cogumelos, apresenta potencial anti-inflamatório, anti-hipertensivo, antinociceptivo, hipocolesterolemizante, antioxidante, antitumoral, etc (BARBOSA et al., 2020, DICKS; ELLINGER, 2020, WONG et al., 2020, ČILERDŽIĆ et al., 2019, SYNYTSYA et al., 2009).

De fato, Dkhil et al. (2020) relataram a existência de cinco compostos fenólicos presentes no *P. ostreatus*: ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, propilgalato e ácido cinâmico. Como mencionado previamente, esses compostos bioativos apresentam potenciais benéficos para saúde e foram relacionados com a redução da pressão arterial, da glicemia e da hemoglobina glicada em humanos (DICKS; ELLINGER, 2020, CHOUDHURY et al., 2013, AGRAWAL et al., 2010).

Já em estudos experimentais com a utilização de animais, principalmente ratos e camundongos, também foram evidenciados efeitos benéficos do *P. ostreatus*, principalmente como antioxidantes, hipoglicemizante e, conseqüentemente, protetor de danos hepáticos, cardiovasculares e renais (ZHU et al., 2019, NAGUIB et al., 2014). Análises *in vitro* foram mais além e demonstraram grande potencial do *P. ostreatus* no auxílio do tratamento de doenças neurodegenerativas como, por exemplo, Alzheimer e Parkinson (ČILERDŽIĆ et al., 2019). Outros estudos evidenciaram sua eficácia no tratamento de alguns tipos de câncer de pulmão e de mama, efeitos atribuídos à ação antioxidante dos compostos fenólicos presentes no *P. ostreatus* (EL-DEEB et al., 2019, ČILERDŽIĆ et al., 2019, RAHIMAH et al., 2019).

As propriedades dos cogumelos em diferentes apresentações, seja em forma de extrato ou até mesmo *in natura*, sobre o metabolismo glicídico chamam atenção. Sabe-se que a insulina é um hormônio anabólico importante que participa do metabolismo glicídico por estimular a internalização da glicose nas células por meio da translocação dos seus receptores na membrana plasmática. Em algumas situações patológicas pode haver a necessidade de concentrações maiores de insulina para ser efetiva na internalização da glicose, distúrbio conhecido como resistência insulínica (RI) (GUTIERREZ-RODELO et al., 2017, BEALE, 2013).

Nos últimos 30 anos se observou-se um aumento dos casos de RI e estima-se uma prevalência de até 30 %, a depender da população estudada. Por ser altamente

relacionada com a obesidade, o tratamento não farmacológico mais utilizado é o suporte dietético. Tanto recomendações de modificações alimentares específicas como o aumento do consumo de fibras, diminuição do consumo de álcool, redução do consumo de produtos industrializados, bem como modelos dietéticos específicos (dieta do mediterrâneo, dieta DASH numa tradução livre para Abordagem Dietética para interromper a Hipertensão e dietas *Low Carb*) têm sido propostos para o tratamento da RI (MIRABELLI et al., 2020, GOLABEK; REGULSKA-ILOW, 2019).

Neste contexto, os cogumelos parecem promissores, pois têm mostrado ação antidiabética e hipoglicemiante (SHEN et al., 2019, MUSZYŃSKA et al., 2018, KIM et al., 2016). Outrossim, a regulação de marcadores inflamatórios exercida pelos cogumelos parece ter um papel importante em mitigar a RI (MATTHAEI et al., 2000, BEALE, 2013, KIM et al., 2016, GOLABEK; REGULSKA-ILOW, 2019, MIRABELLI et al., 2020, TSIGALOU et al., 2021).

Apesar do crescente interesse em estudar os cogumelos, muitas lacunas não foram elucidadas e precisam ser investigadas. Neste cenário, merecem atenção estudos que avaliem a composição química, as concentrações e o tempo de administração dos cogumelos. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a influência da administração do extrato do cogumelo *P. ostreatus* sobre a glicemia e a sensibilidade à insulina em camundongos C57BL/6 saudáveis.

## 2 Objetivos

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação do cogumelo *P. ostreatus* sobre a glicemia e a sensibilidade à insulina de camundongos C57BL/6 saudáveis.

### 2.2 Objetivos específicos

I. Determinar a atividade hipoglicêmica aguda do extrato de *P. ostreatus* administrado por via oral;

II. Avaliar a atividade aguda do extrato de *P. ostreatus* no teste de tolerância oral a glicose;

III. Avaliar a ingestão alimentar e hídrica;

IV. Avaliar o peso corporal;

V. Determinar a influência do *P. ostreatus* sobre metabolismo glicídico.

### 3 Revisão bibliográfica

Os fungos são seres macroscópicos ou microscópicos, unicelulares ou pluricelulares, eucariotas (com um núcleo celular), heterótrofos. Na biologia, estes fazem parte do reino fungi, dividido em cinco filos: quitridiomycetos, ascomycetos, basidiomycetos, zigomicetos e os deuteromicetos (NARANJO-ORTIZ; GABALDO, 2019). Esses são estruturados em píleo e estipe, e tais estruturas não estão necessariamente presente em todos os cogumelos (MILES; CHANG, 2004).

São chamados de cogumelos a parte visível de alguns fungos, conhecidos como corpos de frutificação. Essa parte possui os esporos, os quais são responsáveis pela reprodução, e tem em sua base filamentos ramificados denominados hifas que iniciam sua formação tubular por meio de esporos, que se ramificam diversas vezes assim criando o micélio vegetativo (CARLILE et al., 2001).

No que diz respeito ao cultivo, este é composto por uma série de etapas desde o manuseio do substrato até o armazenamento adequado, o que acaba diminuindo o interesse por parte da agricultura de produção. Segundo a recente revisão de Chang e Wasser (2018), os seguintes meios de cultivo são utilizados para o crescimento dos cogumelos:

a) resíduos de frutas frescas: *Lentinula*, *Pleurotus*, *Flammulina*, *Auricularia*, *Pholiota*, *Tremella*, *Agrocybe*, *Ganoderma* e *Coprinus*; b) pequenas quantidades de material compostado: *Volvariella*, *Stropharia* e *Coprinus*; c) material compostado: *Agaricus*; d) no solo e em húmus: *Lepiota*, *Lepista*, *Morchella* e *Gyromitra*; e) cogumelos micorrízicos: *Boletales*, *Cantharellus*, *Amanita*, *Tuber*, *Tricholoma matsutake* e *Lactarius*. Esses autores relataram também a importância de outros fatores que devem ser controlados como adequação química, física e atividade microbiana do cogumelo (CHANG; WASSER, 2018).

O consumo de cogumelos é uma tradição em diversos países, especialmente nos países asiáticos e na região Sul e Centro-leste da Europa. De maneira histórica, parece que o cultivo de cogumelos teve início especialmente na China por volta do ano 600 (AIDA et al., 2009). Tradicionalmente, a China é o país com maior produção de cogumelos no mundo, sendo o continente Asiático responsável por dois terços de

toda produção mundial. Além da China, países como Espanha, Austrália e Índia se destacam na produção de cogumelos em uma boa escala dentro do panorama mundial (FAO, 2021).

Considerados iguarias pela sua textura e sabor, os cogumelos possuem um grande valor nutricional, contendo um alto teor de proteínas, aminoácidos essenciais, fibras e baixo teor de gordura. Somado a isso, possuem propriedades farmacológicas, incluindo propriedades antimicrobianas, antivirais, antitumorais, anti-inflamatórias, imunomoduladoras, hipoglicêmicas e hepatoprotetoras, podendo ser considerados um alimento funcional (ELLAN et al, 2019). Cabe reforçar que estes têm sido utilizados tanto na gastronomia, como para fins terapêuticos e que existem aproximadamente 300 espécies de cogumelos comestíveis, porém apenas 30 espécies são domesticadas e 10 espécies comercializadas (SÁCHEZ, 2009). Dos comestíveis, os mais cultivados são o *Agaricus bisporus*, comumente chamado de champignon, após vem o *Lentinus edodes*, o *shiitake*, *Pleurotus* spp., também chamado de cogumelo ostra, *Auricularia auricula*, o cogumelo orelha de pau, e *Volvariella volvacea* ou cogumelo palha (CHIAVEGATTI et al., 2018).

Não é de hoje que as escolhas alimentares são uma preocupação como influenciadoras de adaptações fisiológicas e fisiopatológicas. Desde os tempos antigos os nutracêuticos obtidos através dos cogumelos são utilizados com o intuito de tratar doenças (RATHORE et al., 2017). Seus compostos bioativos, que não são considerados nutrientes, parecem, de fato, ter propriedades farmacológicas e nutracêuticas como, por exemplo, capacidade de inibir o estresse oxidativo por estimular adaptação dos enzimas antioxidantes endógenas (BASTOS et al., 2009).

Neste contexto, atribui-se aos compostos fenólicos presentes a ação antioxidante, sendo os principais o ácido gálico e o ácido cafeico (RATHORE et al., 2017, KATHUN et al., 2013). Somado a isso, tem sido mostrado que os cogumelos *in natura* ou seus polissacarídeos isoladamente apresentam ação importante no funcionamento do trato gastrointestinal, bem como são capazes de influenciar proteínas imunomoduladoras com atividades antiproliferativas e antitumorais (RATHORE et al., 2017, VALVERDE et al., 2015).

O gênero *Pleurotus* spp., conhecido popularmente como cogumelo ostra, shi-moji ou hiratake, são fungos saprofiticos pertencentes a família *Pleurotaceae* que possuem cores variadas de acordo com a espécie e as condições de cultivo (CHANG; MILES, 2004). Ocupam a terceira posição no que diz respeito à produção de cogumelos comestíveis no mundo (SARTORI et al., 2011). Aproximadamente 30 espécies de *Pleurotus* comestíveis são conhecidas e, dentre estas, destacam-se a *P. djamor*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii* e *P. citrinopileatus* e o *P. ostreatus*.

Esta última possui um chapéu convexo, cor acinzentada ou branca e um diâmetro de 5 a 15 centímetros. Na parte inferior do chapéu, suas lâminas encontram-se dispostas radialmente, sendo bem estreitas. Seus pés laterais são pilosos e curtos, quando comparados ao diâmetro do seu chapéu, sua parte comestível tem coloração branca, apresentando aroma intenso e agradável (BARBADO, 2003).

O ciclo de produção do *P. ostreatus* é rápido, visto que necessita de menos de 30 dias do início do desenvolvimento vegetativo até estar pronto para consumo, tendo em condições adequadas até três ciclos produtivos. Diante da rapidez do seu crescimento e a facilidade de cultivo, tornou-se uma opção atrativa em escala industrial, principalmente a partir da década de 70, no século passado, quando passou a ser um dos cogumelos comestíveis mais cultivados no mundo (MANDEEL et al., 2005, APATI, 2004).

No que tange a composição nutricional, alguns estudos analisaram o *P. ostreatus*, e foi observado que a cada 100g de massa seca tem-se 2,24g de gordura, 40,53g de carboidratos totais, 9,45g de fibra bruta e 16,21g de proteína bruta (BONATTI et al., 2003). No estudo de Lebeque et al. (2018) foram avaliadas as quantidades de ferro, magnésio e outros micronutrientes, e verificaram que em 100g de *P. ostreatus* há aproximadamente 50mg de ferro e 343mg de magnésio. Ademais, esses autores observaram, a cada 100g, a presença de ácido ascórbico (10,29mg), compostos fenólicos (138mg) e beta-glucanas (1,54g), importantes componentes com bioatividade e nutraceuticos (LEBEQUE et al., 2018).

Sobre os compostos fenólicos presentes nos cogumelos *P. ostreatus*, destacam-se os achados de Dkhil et al. (2020) os quais relataram a existência de cinco compostos fenólicos: ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, propilgalato e ácido

cinâmico. Com relação à atividade prebiótica dessa espécie, Synytsya et al. (2009) mostraram que o *P. ostreatus* são fontes de glucanos biologicamente ativos. Somado a isso, possuem polissacarídeos que podem estimular o crescimento de micro-organismos ativos no cólon, denominados de probióticos, reforçando a ação benéfica, como exemplo dos gêneros de *Lactobacillus* e de *Bifidobacterium*.

É nítida a relevância do *P. ostreatus* como objeto de estudo para avanços no campo científico. Por ser um cogumelo com importante atividade antioxidante e prebiótica, parece promissor no auxílio do tratamento de diversos tipos de doenças (BARBOSA et al., 2020, DICKS; ELLINGER, 2020, ČILERDŽIĆ et al., 2019, RAHIMA et al., 2019, ZHU et al., 2019, SONG et al., 2018, SYNYTSYA et al., 2009). De fato, neste cenário, tem sido mostrado que este possui propriedade hipoglicemiante, sendo considerado um alimento funcional no diabetes mellitus, assim como propriedades anticarcinogênicas, antivirais, imunestimulante e com capacidade de regular os níveis de lipídios sanguíneos (AHMED et al., 2020, BANUKIE et al., 2020).

Baeva et al. (2020) demonstraram efeitos hipocolesterolêmicos e antinociceptivos em animais e pacientes que consumiram basidiocarpos de *P. ostreatus*, destacando a presença do  $\beta$ -d-glucano como um polissacarídeo capaz de agir como imunomodulador, antitumoral e antioxidante. Com relação ao status antioxidante, Schneider et al. (2011) verificaram uma diminuição significativa de 11 % na lipoproteína de baixa densidade (colesterol LDL) oxidada em pacientes com hiperlipidemia após três semanas de tratamento. A influência antioxidante do *P. ostreatus* tem sido associada a presença de composto fenólicos, como observado na análise fitoquímica publicada por Rahimah et al. (2019).

Sobre aspectos cadiometabólicos e a ação do *P. ostreatus*, uma importante revisão sobre o tema foi publicada recentemente por Dicks e Ellinger (2020). A revisão se concentrou em estudos que avaliaram o efeito do *P. ostreatus* como cogumelo inteiro, bem como, seus extratos em marcadores relacionados com metabolismo glicêmicos, lipídicos, saúde cardiovascular, peso e apetite em adultos. No total, foram analisados oito estudos para demonstrar os importantes efeitos da ingestão de *P. ostreatus*, principalmente no metabolismo lipídico e glicêmico.

Em um destes estudos, Choudhury et al. (2013) verificaram uma importante redução de 13 % na hemoglobina glicada em homens diabéticos tratados com 3g de *P. ostreatus* durante três meses. Ainda no mesmo estudo, homens com sobrepeso ou obesidade mostraram uma redução de 12 % no colesterol total e 19 % no LDL. Já em marcadores como pressão arterial, não foi observado qualquer alteração significativa (CHOUDHURY et al., 2013). Por outro lado, Khatun et al. (2007) verificaram ação efetiva do *P. ostreatus* na redução da pressão arterial de 17 homens e 13 mulheres diabéticos, quando administrado 50g do cogumelo cozido, três vezes ao dia (150g/dia), durante 24 dias consecutivos.

Com relação ao peso corporal, Schneider et al. (2011) não observaram diferença significativa na diminuição do peso corporal, corroborando com os achados de Khatun et al. (2007) que, apesar dos achados em nos homens e mulheres diabéticos com relação a melhora de metabolismo glicêmico e lipídico, o cogumelo não mostrou diferença significativa no peso dos sujeitos. É provável que o período de intervenção em ambos estudos tenha sido curto para se avaliar redução no peso, sendo 21 dias no trabalho de Schneider et al. (2011) e 24 dias de intervenção no trabalho de Khatun et al. (2007).

Como já mencionado previamente, a insulina é um hormônio muito importante que atua na regulação da glicemia. Quando a glicemia está aumentada as células  $\beta$  pancreáticas são estimuladas a sintetizarem e secretarem insulina na corrente sanguínea. Essa é então reconhecida por um receptor de membrana que desencadeia estímulos para translocação dos receptores de glicose na membrana plasmáticas das células. Assim, a insulina induz a captação da glicose e, conseqüentemente, reduz a glicemia (GROOPER et al., 2011).

Acredita-se que a patogênese da resistência insulínica esteja atrelada com diversos fatores, desde alterações genéticas ao estilo de vida das pessoas (BEALE, 2013). Ademais, possui forte relação com diversas doenças, principalmente com diabetes do tipo 2, obesidade e síndrome metabólica (SINAIKO; CAPRIO, 2012). Para seu diagnóstico, o teste de Clamp euglicêmico-hiperinsulinêmico é considerado padrão ouro (HØJLUND, 2014).

Tendo em vista essa relação da RI com diversas doenças, em especial a síndrome metabólica, torna-se evidente sua relevância como um dos principais objetos de pesquisa. De fato, o número de estudos nesse tema tem crescido nos últimos anos (GROOPER et al., 2011). Alguns modelos dietéticos, suplementos e exercício físico são constantemente testados na tentativa de atenuar ou reverter a RI (OUDOT et al., 2012).

No campo de modelos dietéticos, há vasta literatura que mostra seus benefícios, em especial quando acompanhada de melhora na composição corporal (ADEVA-ANDANY et al., 2019, KIRKPATRICK et al., 2019). Neste contexto, a dieta mediterrânea, principalmente pelo conteúdo de alimentos com boa propriedade anti-inflamatória e antioxidante, parece ser eficaz contra a RI (MIRABELLI et al., 2020). Além disso, outras dietas que modulam a microbiota intestinal, controlam o peso corporal, apresentam baixo índice glicêmico e são livres de produtos ultra processados parecem favorecer a ação da insulina sobre seus receptores (TSIGALOU et al., 2021, MIRABELLI et al., 2020).

No campo de suplementação e alimentação, o *P. ostreatus* parece ser um aliado no controle glicêmico. Xiong et al. (2018) avaliaram a influência *in vivo* e *in vitro* do *P. ostreatus* e mostraram que este é capaz de estimular a expressão e translocação de *glucose transporter type 4* (GLUT-4). Zhang et al. (2016) demonstram em seu estudo resultados similares, administrando doses de 100, 200 e 400mg/kg de *P. ostreatus*, as quais reduziram a glicemia de animais diabéticos por estimularem a translocação de GLUT4 para membrana.

Somado a isso, Ravi et al. (2013) mostraram efeitos benéficos do *P. ostreatus* sobre a função renal, colesterol e triglicérides de ratos com diabetes do tipo 2. Em seres humanos, dose de apenas 50mg/kg de *P. ostreatus* foi suficiente para melhorar a resposta insulinêmica e a glicemia (JAYASURIYA et al., 2014).

Por fim, destacamos que, embora o número de pesquisas com cogumelos tenha crescido nas últimas décadas, ainda há uma grande lacuna para ser explorada. Dentre os principais pontos, o tipo de cogumelos, seu preparo e administração pare-

cem ser determinantes. Neste contexto, o presente estudo visa contribuir adicionalmente com conhecimentos prévios, para melhor entender as ações deste no organismo.

## 4 Material e métodos

### 4.1 Local de realização

A pesquisa foi desenvolvida nas dependências do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular do Departamento de Fisiologia e Farmacologia e no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas, ambos localizados no Campus Capão do Leão.

### 4.2 Obtenção do extrato

Foi utilizada a linhagem pertencente à coleção da empresa Fungi Brasilis - Biguaçu - SC sob denominação #90 de *Pleurotus ostreatus*. Os basidiomas foram cultivados em sacos de polipropileno, contendo 3kg de substrato a base de capim Tifton, serragem de eucalipto, farelo de trigo, gesso e CaCO<sub>3</sub>. Primeiramente, o capim foi umedecido *overnight* (maceração) e posteriormente misturado aos outros componentes na proporção de 60 % tifton, 20 % serragem de eucalipto, 15 % farelo de trigo, 2 % CaCO<sub>3</sub> e 3 % gesso.

A mistura foi acondicionada em sacos de polipropileno e pasteurizados a 85°C por 8h em câmara de vapor. Após o resfriamento, foi usado 2% de inóculo crescido em grãos de trigo. O material foi incubado por 30 dias a 25° e após a colonização foram abertos para a obtenção dos basidiomas em umidade relativa do ar entre 70 a 90 %. Todo o processo foi desenvolvido nas dependências da empresa Colonial Fungi em Pelotas - RS

Os cogumelos foram secos em desidratador (Funkitchen®) durante 8h, a 50°C, triturados em moedor (Cadence®) e armazenados a 4°C. Posteriormente, 200g de cogumelo em pó seco e 2000ml de etanol 70 % foram colocados em um sistema de refluxo por 30min a 100°C. Feito isso, a mistura será filtrada sob vácuo e a fração solúvel em etanol será evaporada em um evaporador rotativo (modelo 803, Fisatom). O resíduo insolúvel em etanol será re-extraído com 2000mL de água por 1h no mesmo sistema. Ao final, os extratos foram agregados e liofilizados até que o extrato seco fosse obtido (GAMBATO et al., 2018).

### 4.3 Considerações éticas

Todos os procedimentos deste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA/UFPel – n°. 24735-2020) e estão de acordo com a Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008, que estabelece normas para a Prática Didático-Científica da Vivisseção de animais; dos Princípios Éticos na Experimentação Animal, formulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal; assim como aquelas contidas nos Princípios Internacionais Orientadores para a pesquisa Biomédica envolvendo Animais provenientes do *Council for International Organizations of Medical Sciences* (CIOMS) (GOLDIM, 1997).

### 4.4 Cálculo do tamanho amostral

Para o cálculo do tamanho amostral foi utilizado o programa SigmaPlot 12.0, considerando: probabilidade de erro  $\alpha = 0,05$  e poder do teste estatístico  $(1 - \beta) = 0,90$ , chegando a oito ( $n=8$ ) animais por grupo, totalizando 32 animais ( $n=32$ ) (BLANCHE et al., 2019).

### 4.5 Animais

Foram utilizados 32 camundongos C57BL/6 machos com aproximadamente 60 dias, alojados em gaiolas de polipropileno (65 x 25 x 15 cm) cobertas por maravalha, com tampa em arame galvanizado, bebedouro em polipropileno com capacidade de 700mL, rolha cônica de borracha e bico de aço inoxidável reto. Foram divididos de acordo com o tratamento, disposto no item 4.6, em oito caixas contendo quatro animais em cada caixa.

Os animais foram mantidos no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas sob condições adequadas de temperatura e umidade (22-24°C e 40-60%, respectivamente), e ciclo de claro/escuro de 12h, recebendo ração padrão do biotério (marca Nuvilab®) e água *ad libitum*.

#### 4.5.1 Estudo piloto para determinação da ação aguda do *P. ostreatus* sobre a glicemia

Primeiramente, os animais foram divididos em três grupos (n=4/cada) e submetidos a administração de extrato de *P. ostreatus* por via oral, após jejum de 4h, nas seguintes concentrações: 500, 1000 e 2000mg/kg em dose única. A glicose sanguínea foi mensurada utilizando glicosímetro (AccuChek Active, Roche DiagnosticsR, USA) nos seguintes tempos: 0, 30, 60 e 90 minutos (NG et al., 2015).

#### 4.5.2 Influência do *P. ostreatus* no teste de tolerância oral à glicose (TTOG)

Amparados pelos achados da ação aguda do *P. ostreatus* sobre a glicemia, optamos pela utilização de dose única desse extrato na concentração de 2000mg/kg por 60min. Portanto, 72h após a primeira análise, os animais foram divididos em dois grupos (n=5/cada): Controle e *P. ostreatus*.

No grupo *P. ostreatus* foi administrada dose única de extrato por via oral, enquanto que o grupo Controle recebeu solução de NaCl 0,9 % pela mesma via. Passados 60min, o TTOG foi iniciado com a administração de solução de glicose (2g/kg) por via oral e mensurada a glicemia utilizando glicosímetro (AccuChek Active, Roche DiagnosticsR, USA) nos seguintes tempos: 0, 30, 60 e 90 minutos (NG et al., 2015).

#### 4.6 Tratamento com *Pleurotus ostreatus*

Após o estudo piloto, foi iniciado o tratamento com o extrato de *P. ostreatus*. Para isto, foi preparada uma solução de extrato na concentração de 150mg/mL e administrado diariamente (entre 9-10h) por gavagem intragástrica por 4 semanas ininterruptas (XIONG et al., 2017) conforme os grupos abaixo (n=8/ cada):

1. Controle (C): camundongos tratados com veículo (solução fisiológica (NaCl 0,9 %)).
2. *Pleurotus ostreatus* 500 mg/kg (*P. ostreatus* 500): camundongos tratados com 500 mg/kg do extrato.

3. *Pleurotus ostreatus* 1000mg/kg (*P. ostreatus* 1000): camundongos tratados com 1000 mg/kg do extrato.

4. *Pleurotus ostreatus* 2000mg/kg (*P. ostreatus* 2000): camundongos tratados com 2000 mg/kg do extrato.

#### 4.6.1 Peso corporal e ingestão alimentar e de água

Os animais foram pesados semanalmente para mensuração da variação do peso corporal. A ingestão de ração e de água foi mensurada por caixas e normalizadas dividindo o valor pelo número de animais. Ou seja, foi feita uma estimativa das ingestões individuais (COSTA, 2019).

#### 4.6.2 Teste de tolerância à insulina (TTI)

Ao final do período de tratamento foi realizado o TTI por meio da aplicação de uma injeção intraperitoneal de insulina (0,5U/kg de peso corporal) após 4h de jejum. Os níveis de glicose sanguínea foram mensurados utilizando glicosímetro (AccuChek Active, Roche DiagnosticR, USA) nos seguintes tempos: 0, 5, 20, 35 e 60 minutos após a injeção de insulina (GARCIA et al., 2019).

#### 4.6.3 Constante de decaimento da glicemia (KITT)

A constante de decaimento da glicemia foi calculada tomando como base a variação relativa da glicemia entre os tempos 5 e 20min do TTI. O cálculo realizado conforme descrito previamente descrito por Bonora et al. (1989).

$$KITT = \frac{\text{Glicemia no tempo 5min} - \text{Glicemia no tempo 20min}}{\text{Tempo em minutos}}$$

#### 4.7 Eutanásia

Logo após o TTI, os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por exsanguinação. Amostras de sangue foram coletadas em tubos com EDTA, o plasma foi separado e armazenado para futuras análises bioquímicas (AST, alanina aminotransferase (ALT), creatinina e ureia). Os tecidos foram acondicionados em formalina 10%, seguido de álcool 70% para o preparo de material visando futuras análises histológicas.

#### 4.8 Descarte de materiais biológicos e químicos

As carcaças dos animais eutanasiados foram dispensadas em saco plástico fechado e depositados em bombona com tampa para recolhimento por empresa especializada. Materiais tóxicos e contaminados foram tratados conforme protocolo da instituição.

#### 4.9 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). As análises foram realizadas usando o *software Graph Pad Prism 6*. Teste t de *Student* foi utilizado para comparações entre dois grupos (glicemia basal). ANOVA com medidas repetidas foi utilizada para análise do peso corporal, consumo alimentar, consumo de água e curvas glicêmicas. Foi utilizado o teste de Bonferroni como complementar as análises de variância, aceitando o nível de significância de 5%.

## 5 Resultados

### 5.1 Resultados do estudo piloto

#### 5.1.1 Determinação da ação aguda do *P. ostreatus* sobre a glicemia

Primeiramente foi testado se o extrato de cogumelo da espécie *P. ostreatus* alterava a glicemia dos animais quando administrado em diferentes concentrações por via oral. A glicemia basal média foi de  $150 \pm 6,9$ mg/dL. Não foi observada diferença significativa entre os grupos nos respectivos tempos experimentais. Dados expressos como média  $\pm$  EPM da variação da glicemia basal (n=4/grupo). (Figura 1).

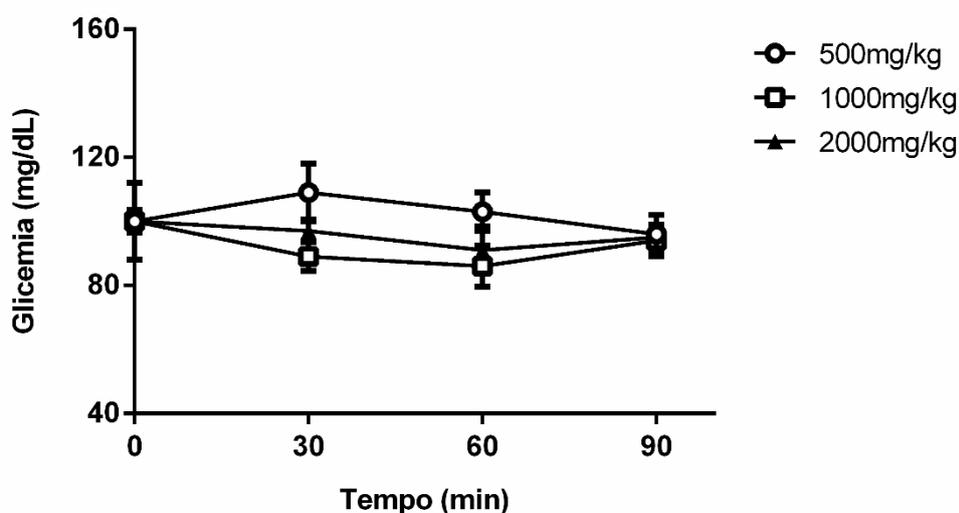


Figura 1. Curva glicêmica com extrato de *Pleurotus ostreatus* administrado em diferentes concentrações por via oral.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

#### 5.1.2 Influência do *P. ostreatus* no teste de tolerância oral à glicose (TTOG)

A Figura 2 mostra a glicemia média dos camundongos 60min após administração de dose única de *P. ostreatus* por via oral na concentração de 2000mg/kg ou veículo (grupo controle). Apesar do grupo *P. ostreatus* ter apresentado uma glicemia

menor, esta não foi significativa em relação ao controle ( $P=0,1896$ ). Dados expressos como média  $\pm$  EPM ( $n=5$ /grupo).

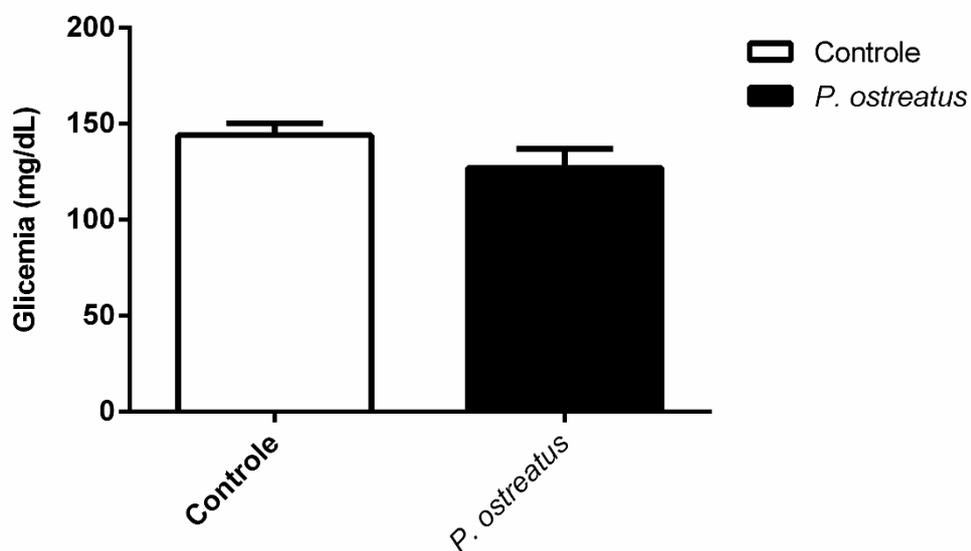


Figura 2. Níveis de glicemia após 60 minutos da administração de *Pleurotus ostreatus* (2000mg/kg).

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A Figura 3A e 3B mostram a influência do *P. ostreatus* sobre o teste oral de tolerância a glicose. O grupo tratado com extrato de *P. ostreatus* apresentou glicemia significativamente maior aos 30min do TTOG. Não foi observada diferença significativa nos demais tempos do teste.

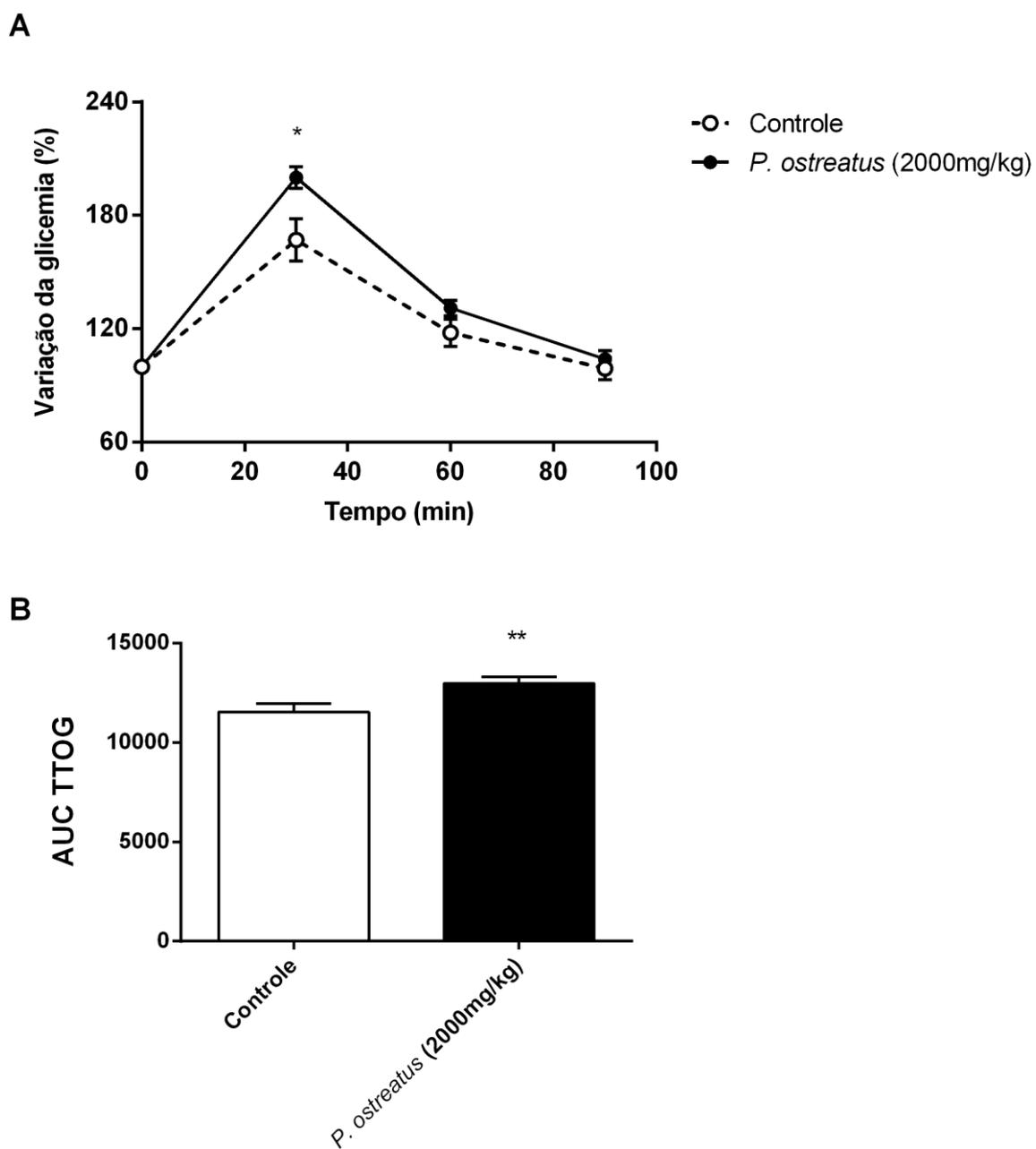


Figura 3. Influência do *Pleurotus ostreatus* no teste de tolerância oral à glicose (TTOG).

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A) curva glicêmica. B) área sob a curva. Dados expressos como variação da glicemia (%) (n=5/ grupo)<sup>1</sup>.

## 5.2 Resultados do tratamento com *P. ostreatus*

### 5.2.1 Peso corporal e ingestão alimentar e de água

O peso corporal não apresentou variações significativas ao longo das quatro semanas de tratamento. Dados expressos como média  $\pm$  EPM (n=6-8/grupo). (Figura 4).

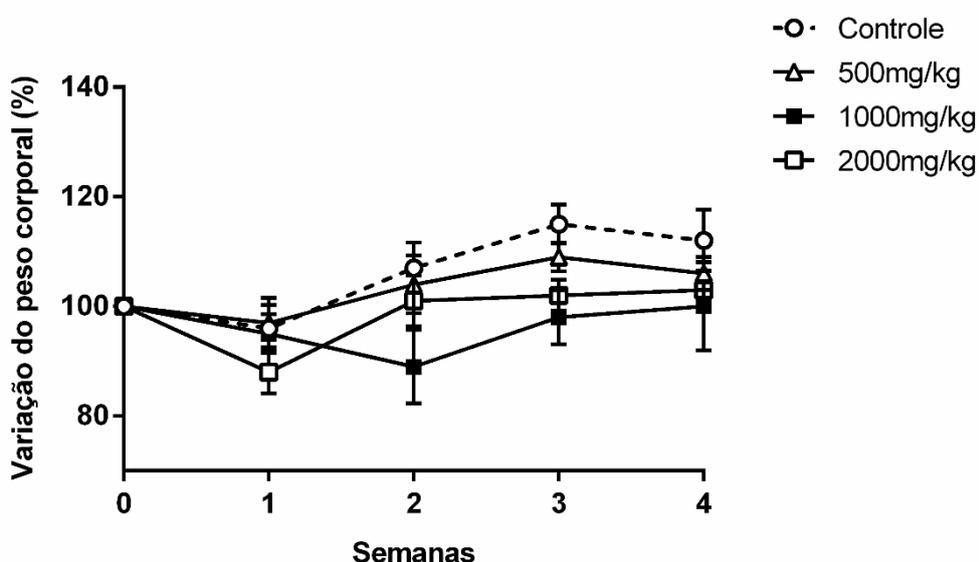


Figura 4. Variação do peso corporal ao longo de quatro semanas de tratamento.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A ingestão alimentar média por camundongo no início do experimento foi de 1,56g por dia. A Figura 5 apresenta as variações da ingestão alimentar ao longo do tempo experimental. Na análise por grupos, observou-se que o grupo tratado com *P.*

<sup>1</sup> \* Diferença significativa versus grupo controle aos 30min (P<0,05).

\*\* Diferença significativa versus grupo controle (P<0,05).

*ostreatus* 500mg/kg apresentou menor consumo alimentar ao final da primeira semana, quando comparado com os grupos controle e *P. ostreatus* 2000mg/kg. Na segunda semana, observou-se que o grupo *P. ostreatus* 1000mg/kg apresentou menor consumo alimentar em relação ao controle e *P. ostreatus* 2000mg/kg. Já ao final da terceira semana experimental, o consumo alimentar do grupo *P. ostreatus* 500mg/kg aumentou em relação a primeira semana, voltando para valores semelhantes ao basal. Dados expressos como média  $\pm$  EPM (n=6-8/ grupo)<sup>2</sup>.

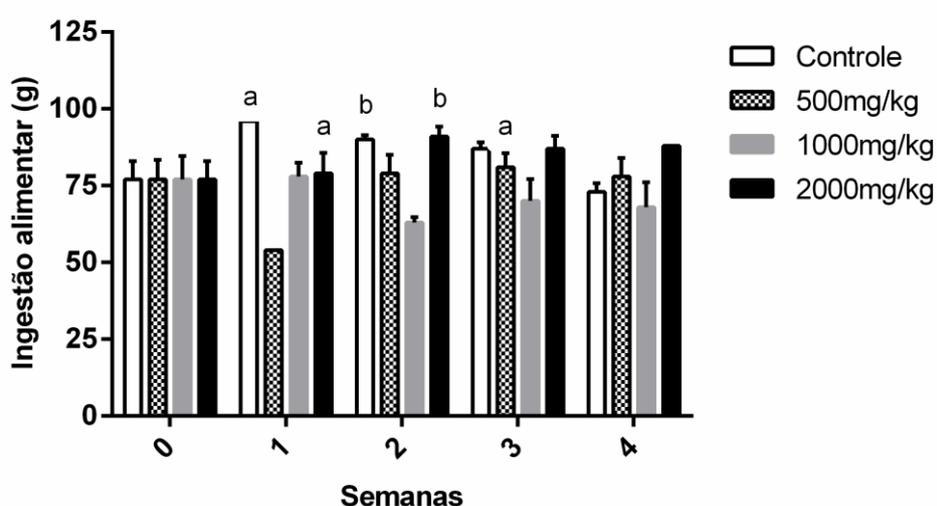


Figura 5. Análise da ingestão alimentar ao longo de quatro semanas experimentais.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A ingestão de água média por camundongo no início do experimento foi de 3,03mL por dia. A Figura 6 apresenta as variações da ingestão de água ao longo do tempo experimental. Observou-se que a ingestão de água foi significativamente menor

<sup>2</sup> \* a diferença significativa vs grupo *P. ostreatus* 500 na primeira semana (P<0,05).

b diferença significativa vs grupo *P. ostreatus* 1000 na segunda semana (P<0,01).

no grupo *P. ostreatus* 2000mg/kg ao final da primeira semana em relação aos demais tempos experimentais. Dados expressos como média  $\pm$  EPM (n=6-8/ grupo)<sup>3</sup>.

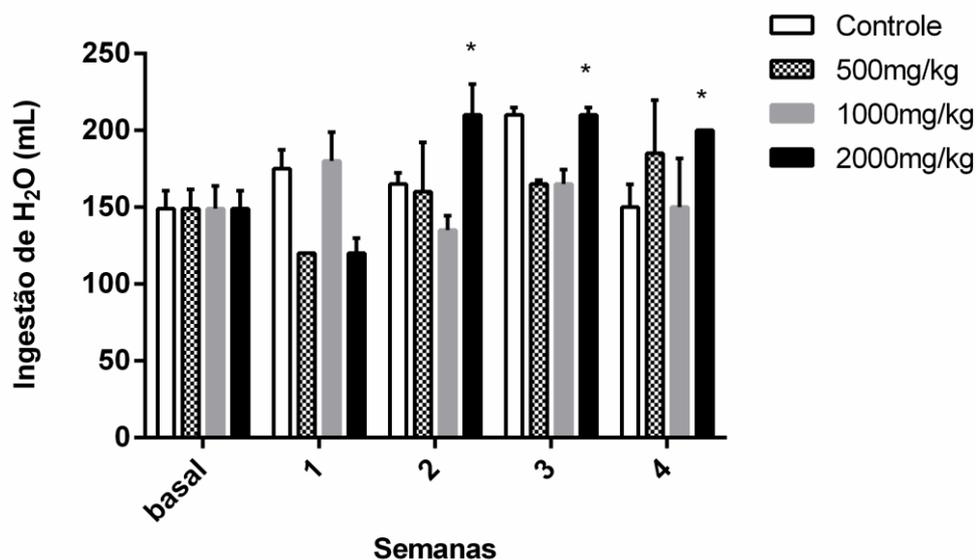


Figura 6. Análise da ingestão de água ao longo de quatro semanas experimentais.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

### 5.2.2 Teste de tolerância à insulina (TTI)

Quando submetidos ao TTI foi observada variação da glicemia ao longo do tempo ( $P < 0,0001$ ). Os grupos *P. ostreatus* 500mg/kg e *P. ostreatus* 2000mg/kg apresentaram elevação significativa da glicemia aos 5 min em relação as respectivas glicemias no início do teste. Aos 20 min, a glicemia foi reduzida significativamente no grupo *P. ostreatus* 500mg/kg em relação ao respectivo grupo aos 5 min. Resultados expressos em variação percentual da glicemia (n=6/ grupo)<sup>4</sup>. (Figura 7).

<sup>3</sup> \* Diferença significativa vs grupo *P. ostreatus* 2000mg/kg na primeira semana ( $P < 0,05$ ).

<sup>4</sup> \*a diferença significativa do grupo *P. ostreatus* 500mg/kg 5min vs *P. ostreatus* 500mg/kg 0 min ( $P < 0,05$ ). b diferença significativa do grupo *P. ostreatus* 2000mg/kg 5min vs *P. ostreatus* 2000mg/kg 0min ( $P < 0,01$ ). # diferença significativa do grupo *P. ostreatus* 500mg/kg 20min vs *P. ostreatus* 500mg/kg 5min ( $P < 0,05$ ).

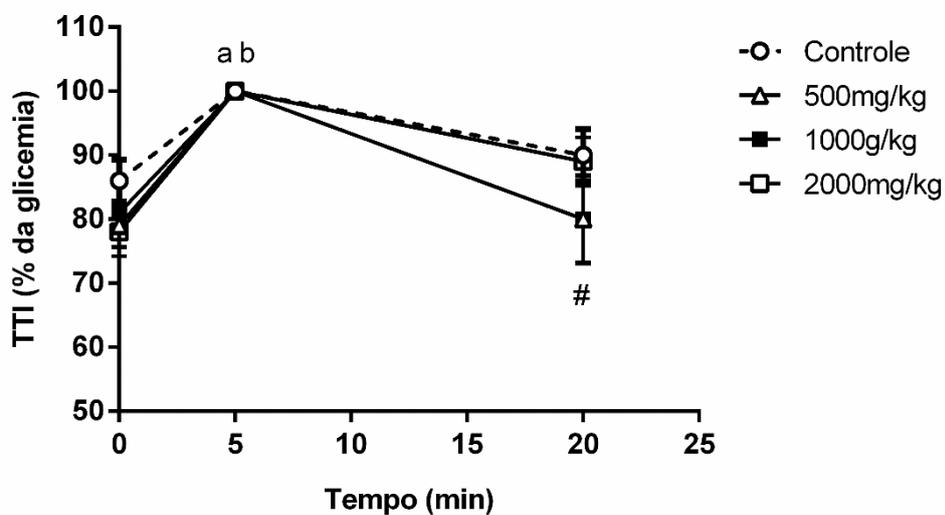


Figura 7. Teste de tolerância à insulina (ITT) ao final do período experimental.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Também avaliou-se a constante de decaimento da glicemia entre os tempos 5 e 20 min e, embora tenha-se encontrado grande variação entre os grupos, não foi observada diferença significativa. Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão da média (n=6/grupo). (Figura 8).

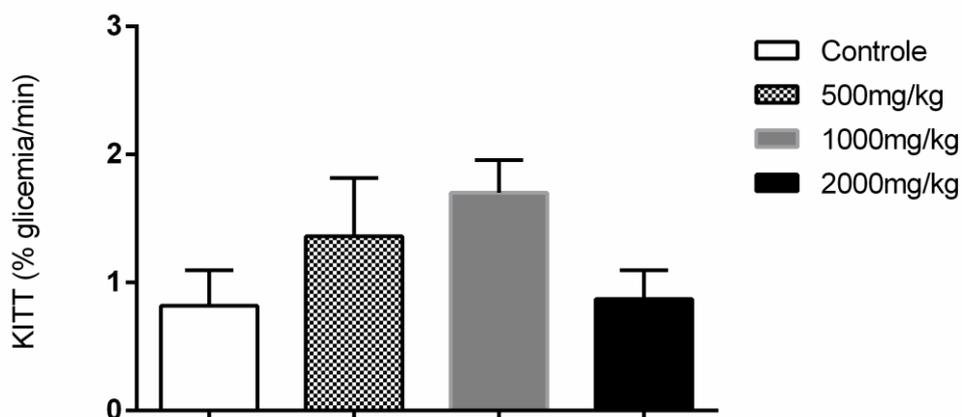


Figura 8. Constante do decaimento da glicemia (KITT).

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

## 6 Discussão

Os resultados do presente estudo indicam que o extrato de *P. ostreatus* apresenta potencial em melhorar o metabolismo glicídico por aumentar a sensibilidade à insulina. Ao realizarmos um comparativo com doses variadas de extrato, verificamos que neste contexto a dose de 500mg/kg foi a mais promissora.

Muitos estudos já foram realizados utilizando o cogumelo da espécie *P. ostreatus* em diferentes modelos experimentais, apesar disso, poucos avaliaram as possibilidades de sua utilização com relação ao controle glicêmico (XIONG et al., 2018, ZHANG et al., 2016, JAYASURYIA et al., 2015, RAVI et al., 2013). Adicionalmente, salientamos que no presente estudo foram avaliados animais saudáveis, sem qualquer injúria induzida experimentalmente por medicamentos, cirurgias e dietas, diferente dos demais estudos em que a influência do *P. ostreatus* foi avaliada no diabetes mellitus por dietas hiperlipídicas (ANANDHI et al., 2013), streptozotocina (ZHANG et al., 2016) e aloxana (RAVI et al. 2013, JAYASURYIA et al., 2012).

Não são comuns estudos que apresentem a influência direta *in vivo* de cogumelos sobre a glicemia em animais saudáveis. Podemos citar o estudo de Ng et al. (2015), em que foi mostrado o efeito hipoglicemiante do cogumelo *P. sajor-caju* em ratos *Wistar* 6h após sua administração por via oral nas doses de 750 e 1000mg/kg. Ademais, no mesmo estudo foi relatado que tais doses de extrato aquoso de cogumelo se mostraram hipoglicemiantes de forma semelhante à metformina, droga comumente utilizada por pacientes com diabetes mellitus para o controle glicêmico (NG et al., 2015).

Portanto, no presente estudo avaliou-se primeiramente se o *P. ostreatus* apresentava alguma influência direta e isolada sobre a glicemia. Para isso, foi realizada uma curva glicêmica após a administração do extrato de *P. ostreatus* aguda por via oral. Apesar da pequena oscilação ao longo do tempo, as doses de 1000mg/kg e 2000mg/kg apresentaram oscilação negativa na glicemia, com menores valores após 60min, apesar de tais oscilações não serem significativas. Portanto, optou-se pela escolha da maior concentração e com tempo hábil para testar a influência do extrato sobre o TTOG.

Embora na maioria dos estudos o TTOG seja realizado com administração de glicose (2g/kg) por via intraperitoneal (ANDRIKOPOULOS et al., 2008, PEDRO et al., 2020), no presente estudo optou-se pela administração de glicose por via oral para também avaliarmos a influência do extrato de *P. ostreatus* sobre a absorção glicêmica no trato gastrointestinal. Apesar de não ter sido significativa, o grupo que recebeu 2000mg/kg de *P. ostreatus* apresentou uma tendência de redução da glicemia após 60min.

Cabe salientar que no presente estudo foi realizado jejum prévio de 4h para análise da atividade aguda do *P. ostreatus* na glicemia, enquanto períodos de 2-3 vezes maiores de jejum foram realizados em outros estudos (ZHANG et al., 2016, CHEN et al., 2016). É possível que em períodos mais prolongados a diferença na glicemia observada no presente estudo tivesse sido significativa, embora período superior a 4h de jejum seja desaconselhado pelas comissões de ética em experimentação animal. Ainda que não significativos, os resultados do presente estudo vão ao encontro de estudos prévios que verificaram ação hipoglicemiante de diversos cogumelos, geralmente associada com sua capacidade de inibir as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase (PAPOUTSIS et al., 2021, CHEN et al., 2017, WU et al., 2014, SU et al., 2013).

De fato, Seto et al. (2009) ao utilizarem a espécie *Ganoderma lucidum* nas dosagens de 0,3g por kg de peso corporal do extrato tanto em camundongos obesos quanto saudáveis demonstraram diminuição dos níveis de glicose plasmática. Se tratando da espécie *Pleurotus* a literatura é bem clara ao mostrar evidências sobre sua ação hipoglicemiante. À exemplo, o estudo com *Pleurotus soja-caju* de Ng et al. (2015) ao trabalharem com dosagens de 500, 750 e 1000mg/kg de peso corporal do extrato em ratos diabéticos, sendo a dose de 750mg/kg a mais eficaz para promover a redução em glicose sanguínea.

O *Pleurotus cystidiosus* também apresentou eficácia na atividade hipoglicemiante no estudo de Jayasuryia et al. (2012) nas doses de 250, 500, 750, 1000 e 1250mg/kg de peso corporal em ratos *Wistar* induzidos ao diabetes mellitus com aloxana. Em outros animais como coelhos a espécie *Pleurotus tuberregium* nas doses de 100, 200 e 300mg/kg de peso corporal foram eficazes para diminuição da glicemia

em coelhos induzidos ao diabetes (ONUEKWUZU et al., 2019), assim como, os estudos já citados com o *P. ostreatus* e sua ação hipoglicemiante (XIONG et al., 2018, RAVI et al., 2016, ZHANG et al., 2016).

Curiosamente, observou-se no presente estudo maior oscilação glicêmica do grupo 2000mg/kg 30min após receber glicose por via oral no TTOG, contrapondo os achados da literatura (XIONG et al., 2018, ZHANG et al., 2016, RAVI et al., 2013, JAYASURYIA et al., 2012). Para chegar ao sangue, a glicose é transportada em conjunto com o sódio por transportadores chamados de co-transportador de sódio-glicose 1 (SGLT1) presentes na borda em escova dos enterócitos (RÖDER et al., 2014). Esses transportadores realizam o simporte contra o gradiente de concentração da glicose e são expressos em maior quantidade quando expostos a carga de glicose ou análogos (RÖDER et al., 2014).

Neste contexto, é possível que a exposição dos enterócitos aos sacarídeos presentes no extrato do cogumelo tenham promovido maior exposição dos SGLT1 que resultou em uma maior absorção de glicose aos 30min. Cabe reforçar que esse tipo de transportador é limitado por sua quantidade presente na membrana, pela velocidade na sua mudança conformacional e pelo gradiente de concentração gerado pelo transportador ativo primário (RIEG; VALLON, 2018). Somado a isso, o extrato de *P. ostreatus* pode apresentar alterações na motilidade e na microbiota do trato gastrointestinal e, assim, influenciar no trânsito da glicose oferecida por via oral. Neste contexto, futuros experimentos se fazem necessários para determinar essa influência sobre os enterócitos.

Outra influência importante da suplementação com cogumelos que deve ser levada em consideração é com relação ao peso corporal. Esse é basicamente regulado pelo balanço energético, ou seja, pela razão entre o consumo e o gasto energético (MAHAN et al., 2018). No presente estudo, não observamos alterações significativas no peso dos animais ao longo de quatro semanas. Embora oscilações tenham sido observadas em determinados momentos, o consumo alimentar não foi diferente entre o início e o final do período experimental.

Outros estudos corroboram com nossos achados frente ao peso corporal e ingestão alimentar como o de Xiong et al. (2017) que, ao utilizar o ergosterol um fitoesterol presente no *P. ostreatus* em camundongos tratados com dieta hiperlipídica, não observou diferenças no peso corporal e ingestão alimentar dos animais avaliados. Ao encontro disto, porém em estudos com seres humanos, Khatun et al. (2007) mostrou que a utilização de *P. ostreatus* durante investigação de 24 dias em sujeitos diabéticos não teve efeito na alteração do peso corporal.

O mesmo foi observado no estudo de Schneider et al. (2011) ao avaliarem 20 sujeitos saudáveis durante 21 dias com *P. ostreatus*, interessadamente ambos trabalhos mostraram excelente potencial hipoglicemiante dos cogumelos no controle glicêmico. Há de se ressaltar que o período de avaliação do presente estudo foi de quatro semanas e que talvez períodos mais longos devam ser estudados para uma análise mais precisa. Estudos posteriores com maior período de avaliação e compreensão de sistemas que expliquem o motivo do *P. ostreatus* possuir ou não ação sobre apetite e peso corporal são pertinentes.

Já à ingestão de água é um comportamento relacionado com a ativação dos centros reguladores da sede no hipotálamo. Dentre várias influências, esse é ativado pelo aumento da osmolaridade plasmática que, por sua vez, é determinada pela razão entre solutos e solventes. Ou seja, a absorção de solutos no trato gastrointestinal deve ser acompanhada da absorção de água para haver equilíbrio na osmolaridade plasmática.

No presente estudo, observou-se um aumento significativo na ingestão de água no grupo *P. ostreatus* 2000mg/kg da segunda semana em diante em relação ao seu consumo na primeira semana de experimento. Embora não significativas, as ingestões de água dos grupos *P. ostreatus* 500mg/kg e *P. ostreatus* 2000mg/kg apresentaram redução na primeira semana, o que pode ter influenciado tal oscilação ao longo do tempo. Ou seja, por não ser diferente do grupo controle e dos demais grupos, a ingestão de água no grupo *P. ostreatus* 2000mg/kg não parece estar associada com alterações significativas da osmolaridade plasmática, embora tal análise deva ser realizada para confirmação em futuros estudos.

Como mencionado previamente, cogumelos de diversas espécies têm apresentado ação hipoglicemiante ou antihiperlipidêmica (RAVI et al., 2013, JAYASURYIA et al., 2012, WIŃSKA et al., 2012, SCHNEIDER et al., 2011). Ao analisarmos a constante de velocidade de decaimento da glicemia (KITT) observou-se elevação aparente nos grupos *P. ostreatus* 500mg/kg e *P. ostreatus* 1000mg/kg, embora não significativas.

Já no TTI, observamos maior sensibilidade à insulina no grupo *P. ostreatus* 500mg/kg em relação ao grupo controle. Há de se ressaltar que o grupo *P. ostreatus* 1000mg/kg apresentou perfil semelhante ao do *P. ostreatus* 500mg/kg no TTI, mas sem diferenças significativas. Nossos resultados corroboram com os achados de Jayasuriya et al. (2012) que mostraram que a mesma dose foi a que apresentou melhor ação hipoglicemiante, bem como na hemoglobina glicada.

No referido estudo foram analisados ratos *Wistar* saudáveis e diabéticos tratados com doses de 250, 500, 750, 1000 e 1250mg/kg de *P. ostreatus*. Ravi et al. (2013) também demonstraram efeitos hipoglicemiantes pela administração de *P. ostreatus* (250mg/kg) em camundongos diabéticos. Em trabalho prévio do nosso grupo, observamos uma melhor recuperação glicêmica em camundongos tratados por 20 dias com suplementação de cogumelo *Pleurotus albidus* na dose de 500mg/kg (COSTA, 2019).

No mesmo sentido, Xiong et al. (2017) mostraram significativa redução glicêmica quando administrado, mas com dose de 120mg/kg de ergosterol, um fitoesterol predominante no *P. ostreatus*. Balaji et al. (2020) analisaram a espécie de *Pleurotus pulmonarius* e mostraram que essa espécie de cogumelo também foi eficaz em reduzir a glicemia na dose de 400mg/kg. Embora exista grande variação no que diz respeito as doses testadas, a dose de 500mg/kg, além de segura no que diz respeito a toxicidade, apresenta grande potencial hipoglicemiante e anti-inflamatório (JAYASURIYA et al., 2020, ANANDHI et al., 2013).

Como mecanismos propostos para ação hipoglicemiante dos cogumelos em geral, além dos supracitados por inibirem as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, podemos destacar a estimulação da secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas e a translocação/expressão do transpor GLUT4 para membrana plasmática de várias células (ZHANG et al., 2016). Esses autores testaram a influência do *P. ostreatus*, espécie utilizada em nosso estudo, administrado em doses de 100 a 400mg/kg em

ratos diabéticos e observaram maior translocação do GLUT4 para membrana por aumento na fosforilação da glicogênio sintase quinase 3 (GSK-3), principalmente na dose de 400mg/kg.

## 7 Conclusão

No presente estudo foi confirmado que o cogumelo da espécie *P. ostreatus* aumenta a sensibilidade à insulina e, assim, apresenta grande potencial para ser utilizado na prevenção e/ou tratamento no diabetes mellitus. Neste contexto, a dose de 500mg/kg foi mais efetiva na regulação glicêmica, além de não ter influenciado no ganho de peso, na ingestão alimentar e na ingestão de água ao final de quatro semanas.

Perspectivas:

- a) Avaliar a influência do extrato de *P. ostreatus* nas doses 500 e 1000mg/kg sobre o TTOG;
- b) Avaliar a influência do SGLT1, da motilidade e da microbiota intestinal sobre a absorção de glicose do extrato de *P. ostreatus*;
- c) Testar a influência do *P. ostreatus* sobre a gliconeogênese;
- d) Avaliar as reservas de glicogênio nos animais tratados com *P. ostreatus*;
- e) Analisar a influência do *P. ostreatus* sobre as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase *in vitro*;
- f) Avaliar a influência do *P. ostreatus* sobre modelos de resistência à insulina e obesidade.

## Referências

- ADEVA-ANDANY, M. M. et al. Effect of diet composition on insulin sensitivity in humans. **Clinical nutrition ESPEN**, v. 33, p. 29-38, 2019.
- AIDA, F. M. N. A. et al. Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 11-12, p. 567-575, 2009.
- AL-AWAR, A. et al. Experimental diabetes mellitus in different animal models. **Journal of diabetes research**, v. 2016, 2016.
- AGRAWAL, R. P. et al. Effect of oyster mushroom on glycemia, lipid profile and quality of life in type 2 diabetic patients. **Australian Journal of Medical Herbalism**, v. 22, n. 2, p. 50-54, 2010.
- AHMED, O. M. et al. Nephroprotective Effect of *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus* Extracts and Carvedilol on Ethylene Glycol-Induced Urolithiasis: Roles of NF- $\kappa$ B, p53, Bcl-2, Bax and Bak. **Biomolecules**, v. 10, n. 9, p. 13-17, 2020.
- ANANDHI, Ramalingam et al. Antihypercholesterolemic and antioxidative effects of an extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, and its major constituent, chrysin, in Triton WR-1339-induced hypercholesterolemic rats. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 69, n. 2, p. 313-323, 2013.
- ANDRIKOPOULOS, Sofianos et al. Evaluating the glucose tolerance test in mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 295, n. 6, p. 1323-1332, 2008.
- APATI, Giannini Pasiznick. **Secagem e resfriamento a vácuo de cogumelos comestíveis da espécie *pleurotus ostreatus* DSM 1833**. 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004.
- BAEVA, Ekaterina et al. Evaluation of the Cultivated Mushroom *Pleurotus ostreatus* Basidiocarps Using Vibration Spectroscopy and Chemometrics. **Applied Sciences**, v. 10, n. 22, p. 8156, 2020.
- BALAJI, P. et al. Evaluation of antidiabetic activity of *Pleurotus pulmonarius* against streptozotocin-nicotinamide induced diabetic wistar albino rats. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, n. 3, p. 913-924, 2020.
- BARBADO, Jose Luis. **Hongos comestíveis**. Argentina: Editorial Albatros, 2003.
- BARBOSA, Jhonatas Rodrigues et al. Obtaining extracts rich in antioxidant polysaccharides from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* using binary system with hot water and supercritical CO<sub>2</sub>. **Food chemistry**, v. 330, p. 127-173, 2020.

BEALE, Elmus G. Insulin signaling and insulin resistance. **Journal of Investigative Medicine**, v. 61, n. 1, p. 11-14, 2013.

BLANCHE, Etoundi Omgba Cunégonde et al. Study of Acute Toxicity and the Effect of the Aqueous Extract of a Formulation of Three Edibles Mushrooms on Oxidative Stress Induced in Rats. **World Journal of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 6, 2019.

BONATTI, Mariane et al. Estudo da composição de cogumelos das espécies *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* cultivados em palha de bananeira. **Health Environ J.**, v. 4, p. 31-35, 2003.

BONORA, ENZO et al. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 68, n. 2, p. 374-378, 1989.

CHANG, Shu Ting; WASSER, Solomon P. Current and future research trends in agricultural and biomedical applications of medicinal mushrooms and mushroom products. **International journal of medicinal mushrooms**, v. 20, n. 12, 2018.

CHEN, Li et al. Hypolipidaemic and hypoglycaemic activities of polysaccharide from *Pleurotus eryngii* in Kunming mice. **International journal of biological macromolecules**, v. 93, p. 1206-1209, 2016.

CHEN, Pao-Huei et al. Molecular weight affected antioxidant, hypoglycemic and hypotensive activities of cold water extract from *Pleurotus citrinopileatus*. **Journal of food science**, v. 82, n. 10, p. 2456-2461, 2017.

CHIAVEGATTI, B., AKITI. B. T., GIANNOTI. I., PERAZZOLO, I. N., KAMI. L. K. **Cogumelos Comestíveis: Produção e Mercado Brasileiros**. São Paulo: Instituto de Biociência da USP, 2018.

CHOUDHURY, M. B. K. et al. Effects of *Pleurotus ostreatus* on blood pressure and glycemic status of hypertensive diabetic male volunteers. **Bangladesh Journal of Medical Biochemistry**, v. 6, n. 1, p. 5-10, 2013.

ĆILERDŽIĆ, Jasmina et al. *Pleurotus ostreatus* and *Laetiporus sulphureus* (Agaricomycetes): Possible agents against Alzheimer and Parkinson diseases. **International journal of medicinal mushrooms**, v. 21, n. 3, 2019.

COSTA, Paola Quevedo da. **Influência do Tratamento com Extrato de *Pleurotus Albidus* na Regulação Glicêmica de camundongos C5BL6**. 2019. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Nutrição) – Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

DICKS, Lisa; ELLINGER, Sabine. Effect of the intake of oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) on cardiometabolic parameters— A systematic review of clinical trials. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1134, 2020.

DKHIL, Mohamed A. et al. Nephroprotective effect of *Pleurotus ostreatus* extract against cadmium chloride toxicity in rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 1, 2020.

EL-DEEB, Nehal M. et al. Modulation of NKG2D, KIR2DL and cytokine production by pleurotus *ostreatus* glucan enhances natural killer cell cytotoxicity toward cancer cells. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 7, p. 165, 2019.

ELLAN, K. et al. Anti-inflammatory effect of mushrooms in dengue-infected human monocytes. **Tropical Biomedicine**, v. 36, n. 4, p. 1087-1098, 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS. **FAO**. Disponível em: <http://www.fao.org/home/en/>. Acesso em: 28 nov. 2020.

GAMBATO, Gabriela et al. *Pleurotus albidus* modulates mitochondrial metabolism disrupted by hyperglycaemia in EA. hy926 endothelial cells. **BioMed research international**, 2018.

GARCIA, Driele N. et al. Effect of caloric restriction and rapamycin on ovarian aging in mice. **Geroscience**, v. 41, n. 4, p. 395-408, 2019.

GOGAVEKAR, Shweta S. et al. Important nutritional constituents, flavour components, antioxidant and antibacterial properties of *Pleurotus sajor-caju*. **Journal of food science and technology**, v. 51, n. 8, p. 1483-1491, 2014.

GOŁĄBEK, Katarzyna Daria; REGULSKA-ILOW, Bożena. Dietary support in insulin resistance: An overview of current scientific reports. **Adv Clin Exp Med.**, v. 28, n. 11, p. 1577-85, 2019.

GUIDELINE, Performance-Based Test. OECD guideline for the testing of chemicals. **The Hersberger**, v. 601, p. 858, 2001.

HØJLUND, Kurt. Metabolism and insulin signaling in common metabolic disorders and inherited insulin resistance. **Dan Med J.**, v. 61, n. 7, jul., 2014.

JAYASURIYA, WJA et al. Oral hypoglycemic activity of culinary-medicinal mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* (higher basidiomycetes) in normal and alloxan-induced diabetic Wistar rats. **International journal of medicinal mushrooms**, v. 14, n. 4, 2012.

JAYASURIYA, WJA Banukie N. et al. Hypoglycaemic activity of culinary *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* mushrooms in healthy volunteers and type 2 diabetic patients on diet control and the possible mechanisms of action. **Phytotherapy research**, v. 29, n. 2, p. 303-309, 2015.

JAYASURIYA, W. J. A. et al. Anti-inflammatory activity of *Pleurotus ostreatus*, a culinary medicinal mushroom, in wistar rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.

KHATUN, K. et al. Oyster mushroom reduced blood glucose and cholesterol in diabetic subjects. **Mymensingh medical journal: MMJ**, v. 16, n. 1, p. 94-99, 2007.

KHATUN, Selima et al. Hypoglycemic activity of a dietary mushroom *Pleurotus florida* on alloxan induced diabetic rats. **Biyoçojik Çeşitlilik ve Koruma**, v. 6, n. 2, p. 91-96, 2013.

KIM, Min-Hee; JEONG, Eun-Jeong; KIM, Yong-Suk. Studies on the antioxidative activities and active components of the extracts from *Pleurotus ostreatus*. **Journal of Food Hygiene and Safety**, v. 31, n. 2, p. 119-125, 2016.

KIRKPATRICK, Carol F. et al. Review of current evidence and clinical recommendations on the effects of low-carbohydrate and very-low-carbohydrate (including ketogenic) diets for the management of body weight and other cardiometabolic risk factors: a scientific statement from the National Lipid Association Nutrition and Lifestyle Task Force. **Journal of clinical lipidology**, v. 13, n. 5, p. 689-711. e1, 2019.

LEBEQUE, Yamila et al. Proximal composition, nutraceutical properties, and acute toxicity study of culinary-medicinal oyster mushroom powder, *Pleurotus ostreatus* (Agaricomycetes). **International journal of medicinal mushrooms**, v. 20, n. 12, 2018.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. E.; RAYMOND, J. L. Diretrizes para o planejamento dietético. **Krause: alimentos, nutrição & dietoterapia**. 2018.

MANDEEL, Q. A.; AL-LAITH, A. A.; MOHAMED, S. A. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 4, p. 601-607, 2005.

MATTHAEI, Stephan et al. Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. **Endocrine reviews**, v. 21, n. 6, p. 585-618, 2000.

MILES, Philip G.; CHANG, Shu-Ting. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. **CRC press**, 2004.

MIRABELLI, Maria et al. Mediterranean diet nutrients to turn the tide against insulin resistance and related diseases. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1066, 2020.

MUSZYŃSKA, Bożena et al. Study of physiologically active components in different parts of fruiting bodies of varieties of *Agaricus bisporus* (white mushroom). **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 12, p. 2135-2145, 2017.

MUSZYŃSKA, Bożena et al. Anti-inflammatory properties of edible mushrooms: A review. **Food Chemistry**, v. 243, p. 373-381, 2018.

NAGUIB, Yahya M. et al. *Pleurotus ostreatus* opposes mitochondrial dysfunction and oxidative stress in acetaminophen-induced hepato-renal injury. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1-12, 2014.

NARANJO-ORTIZ, Miguel A.; GABALDÓN, Toni. Fungal evolution: Diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. **Biological Reviews**, v. 94, n. 6, p. 2101-2137, 2019.

NG, Sze Han et al. Hypoglycemic and antidiabetic effect of *Pleurotus sajor-caju* aqueous extract in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

ONUEKWUZU, Ifeanacho M.; CHIDINMA, Ikewuchi Catherine; CHIGOZIE, Ikewuchi Jude. Anti-diabetic effect of a flavonoid and sitosterol-rich aqueous extract of *Pleurotus tuberregium sclerotia* in alloxan-induced diabetic rabbits. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)**, v. 19, n. 8, p. 1148-1156, 2019.

OU DOT, C. et al. Stress oxydant et effets bénéfiques rénaux de la restriction sodée dans l'insulinorésistance chez le rat. In: **Annales de Cardiologie et d'Angéiologie. Elsevier Masson**, 2012. p. 162-166.

PEDRO, Patricia Fonseca; TSAKMAKI, Anastasia; BEWICK, Gavin A. The Glucose Tolerance Test in Mice. New York: **Animal Models of Diabetes**, p. 207-216, 2020.

RÖDER, Pia V. et al. The role of SGLT1 and GLUT2 in intestinal glucose transport and sensing. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e89977, 2014.

RIEG, Timo; VALLON, Volker. Development of SGLT1 and SGLT2 inhibitors. **Diabetologia**, v. 61, n. 10, p. 2079-2086, 2018.

RAHIMAH, Santun Bhakti et al. The phytochemical screening, total phenolic contents and antioxidant activities in vitro of white oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) preparations. **Open access Macedonian journal of medical sciences**, v. 7, n. 15, p. 2404, 2019.

RAVI, Bindhu 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.

RATHORE, Himanshi; PRASAD, Shaline; SHARMA, Satyawati. Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. **PharmaNutrition**, v. 5, n. 2, p. 35-46, 2017.

SÁNCHEZ, Carmen. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 5, p. 1321-1337, 2010.

SARTORI, Sergio Birello. **Atividade enzimática e valores nutricionais de *Pleurotus spp.* cultivados em vinhaça**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SCHNEIDER, Inga et al. Lipid lowering effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in humans. **Journal of Functional Foods**, v. 3, n. 1, p. 17-24, 2011.

SETO, S. W. et al. Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water-extract in obese/diabetic (+ db/+ db) mice. **Phytomedicine**, v. 16, n. 5, p. 426-436, 2009.

SHEN, Meng et al. Hypoglycemic effect of the degraded polysaccharides from the wood ear medicinal mushroom *Auricularia auricula-judae* (Agaricomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 21, n. 10, 2019.

SINAIKO, Alan R.; CAPRIO, Sonia. Insulin resistance. **The Journal of pediatrics**, v. 161, n. 1, p. 11-15, 2012.

SONG, Xinling et al. Antioxidant and hepatoprotective effects of intracellular mycelium polysaccharides from *Pleurotus geesteranus* against alcoholic liver diseases. **International journal of biological macromolecules**, v. 114, p. 979-988, 2018.

SYNYTSYA, Andriy et al. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. **Carbohydrate polymers**, v. 76, n. 4, p. 548-556, 2009.

TSIGALOU, Christina et al. Gut microbiome and Mediterranean diet in the context of obesity. Current knowledge, perspectives and potential therapeutic targets. **Metabolism Open**, v. 9, p. 100081, 2021.

VALVERDE, María Elena; HERNÁNDEZ-PÉREZ, Talía; PAREDES-LÓPEZ, Octavio. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. **International journal of microbiology**, v. 2015, 2015.

WASSER, Solomon. Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges. **Biomedical journal**, v. 37, n. 6, 2014.

WIŃSKA, Katarzyna et al. Mushrooms of the genus *Ganoderma* used to treat diabetes and insulin resistance. **Molecules**, v. 24, n. 22, p. 4075, 2019.

WONG, Jack Ho et al. Mushroom extracts and compounds with suppressive action on breast cancer: evidence from studies using cultured cancer cells, tumor-bearing animals, and clinical trials. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, n. 11, p. 4675-4703, 2020.

WU, Ni-Jung et al. In vitro hypoglycemic effects of hot water extract from *Auricularia polytricha* (wood ear mushroom). **International journal of food sciences and nutrition**, v. 65, n. 4, p. 502-506, 2014.

XIONG, Mingrui et al. Antidiabetic activity of ergosterol from *Pleurotus ostreatus* in KK-Ay mice with spontaneous type 2 diabetes mellitus. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 3, p. 1700444, 2018.

ZHANG, Yan et al. Antidiabetic effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* in streptozotocin-induced diabetic rats. **International journal of biological macromolecules**, v. 83, p. 126-132, 2016.

ZHU, Bo et al. The hepatoprotective effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury rats. **International journal of biological macromolecules**, v. 131, p. 1-9, 2019.