

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

**Dissertação**



**Influência do extrato de *Pleurotus ostreatus* na absorção intestinal de glicose pelo transportador de sódio glicose do tipo 1 em camundongos C57BL/6**

**Paola Quevedo da Costa**

**Pelotas, 2023**

**Paola Quevedo da Costa**

**Influência do extrato de *Pleurotus ostreatus* na absorção intestinal de glicose pelo transportador de sódio glicose do tipo 1 em camundongos C57BL/6**

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

Orientador: **Prof.º Dr. Paulo Cavalheiro Schenkel**

**Pelotas, 2023**  
**Paola Quevedo da Costa**

**Influência do extrato de *Pleurotus ostreatus* na absorção intestinal de glicose pelo transportador de sódio glicose do tipo 1 em camundongos C57BL/6**

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

**Data da Defesa: 03/05/2023**

**Banca examinadora:**

**Prof. Dr. (Orientador) Paulo Cavalheiro Schenkel**  
***Doutor em Ciências biológicas: Fisiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul***

**Prof. Dr. Augusto Schneider**

***Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas***

**Prof. Dr. Jucimara Baldissarelli**

***Doutora em ciências biológicas pela Universidade Federal de Santa Maria***

## **Agradecimentos**

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais, Marcio e Zandra, que nunca mediram esforços para que eu e a minha irmã tivéssemos uma educação de qualidade. Sou extremamente grata a vocês por tudo que fizeram/fazem por mim, e agradeço muito por ter o amor de vocês, e o apoio sempre que eu preciso. Vocês são e sempre serão o meu porto seguro! Amo muito vocês!

À minha irmã, Pâmela, por ser a minha pessoa nesse mundo, e me apoiar em todos os momentos, sejam eles bons ou ruins. Tenho muita sorte de te ter ao meu lado, e poder compartilhar todas as vitórias contigo, porque sei que a nossa felicidade é compartilhada. Obrigada por tudo, eu te amo muito, e estarei sempre ao teu lado, my person!

Às minhas amigas, e colegas de laboratório, Karen e Taís, não tenho palavras para agradecer toda ajuda que vocês me deram nesse período. Obrigada por serem além de colegas de trabalho, minhas amigas. Vocês foram extremamente importantes para a conclusão desse ciclo da minha vida.

Às minhas amigas/irmãs, que eu tive a oportunidade de conhecer na graduação, Mariana e Luana, obrigada por terem me apoiado em todos os momentos e terem me dado força para que eu chegasse até aqui. Amo muito vocês.

Agradeço também a toda equipe do Laficardio por terem me ajudado nesse processo.

E por último, e não menos importante, gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Paulo Schenkel, obrigada por além de ensinar, ter me dado a oportunidade de concluir mais esse ciclo com a tua orientação e, principalmente, com todo apoio que me proporcionaste durante esse período do mestrado. Obrigada por ser esse orientador/pessoa maravilhosa.

## Resumo

Da costa, Paola Quevedo **Influência do extrato de *Pleurotus ostreatus* na absorção intestinal de glicose pelo transportador de sódio glicose do tipo 1 em camundongos C57BL/6. 2023 46f.** Dissertação. (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

A glicose é o carboidrato mais importante e é sob essa forma que a maior parte dos carboidratos da dieta é absorvida. A absorção intestinal de glicose através da membrana luminal ocorre por transporte ativo secundário acoplado ao influxo de Na<sup>+</sup> através do transportador de sódio-glicose do tipo 1 (SGLT1). Para se testar a influência do SGLT1, tem sido utilizada preferencialmente a florizina. Essa é um membro da classe chalcona de compostos orgânicos, a qual inibe de forma específica e competitiva tanto o SGLT1 quanto o SGLT2. Sobre o carreador SGLT1, estudos têm mostrado que a sua expressão está estreitamente associada à composição da dieta e que sua exposição aos monossacarídeos pode modular sua ação/expressão. Tendo em vista os inúmeros problemas de saúde acometidos por uma alimentação inadequada, estudos com substâncias bioativas têm o potencial de contribuir positivamente para saúde da população ao reduzir o risco de doenças crônicas, além de conter substâncias que auxiliam a promoção da saúde, trazendo com isso uma melhora no estado nutricional. Neste contexto podemos destacar os cogumelos. Dentre vários cogumelos, os do gênero *Pleurotus* têm sido bastante utilizados em pesquisas. Dentro deste gênero, destacamos a espécie *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*), uma espécie popular cultivada comercialmente em todo o mundo e que tem mostrado potencial anti-inflamatório, anti-hipertensivo, antinociceptivo, hipocolesterolemizante, antioxidante, antitumoral, dentre outras.

**Objetivo:** Determinar a influência do extrato de *Pleurotus ostreatus* na absorção intestinal de glicose pelo SGLT1 em camundongos C57BL/6. **Materiais e métodos:** O estudo foi dividido em 3 experimentos, sendo estes subdivididos em testes. Experimento 1: Avaliar os efeitos do *P. ostreatus* sobre a absorção intestinal de sacarídeos e a glicemia; Experimento 2: Analisar a influência do *P. ostreatus* sobre a glicemia; Experimento 3: Analisar a influência da exposição repetida ao extrato do *P. ostreatus* por 21 dias sobre a absorção de glicose intestinal pelo transportador SGLT1. Para isso, os níveis de glicose foram mensurados através do teste oral de tolerância à glicose (TOTG) e através do teste de tolerância à glicose (TTG). Em ambos os testes foi administrada uma solução de D-glicose (2g/kg de peso corporal dos camundongos). **Resultados e Conclusão:** A exposição oral única de *P. ostreatus*, da maneira como foi feita, não influenciou na capacidade de absorção intestinal de glicose. Além disso, a exposição repetida ao *P. ostreatus* não alterou sua capacidade de variar a glicemia, qualquer que seja o mecanismo envolvido. No entanto, a exposição por 21 dias com *P. ostreatus* aumentou o transporte de glicose pelo SGLT1 quando a carga de glicose ofertada foi de 2g/kg. Em conclusão, camundongos C57BL/6 submetidos a um tratamento de 21 dias com extrato de *P. ostreatus* na dose de 2000 mg/kg, apresentaram aumento no transporte de glicose pelo SGLT1. Análises adicionais são importantes para enriquecer o entendimento dos mecanismos envolvidos nos resultados obtidos no presente trabalho

**Palavras chaves:** Camundongos, cogumelos, florizina, glicemia.

## Abstract

Glucose is the most important carbohydrate and it is in this form that most carbohydrates in the diet are absorbed. Intestinal absorption of glucose across the luminal membrane occurs by secondary active transport coupled to Na<sup>+</sup> influx through the sodium-glucose transporter type 1 (SGLT1). To test the influence of SGLT1, phlorizin has been preferably used. This is a member of the chalcone class of organic compounds, which specifically and competitively inhibits both SGLT1 and SGLT2. Regarding the SGLT1 carrier, studies have shown that its expression is closely associated with diet composition and that its exposure to monosaccharides can modulate its action/expression. In view of the numerous health problems affected by inadequate nutrition, studies with bioactive substances have the potential to contribute positively to the health of the population by reducing the risk of chronic diseases, in addition to containing substances that help promote health, bringing with it an improvement in nutritional status. In this context we can highlight the mushrooms. Among several mushrooms, those of the genus *Pleurotus* have been widely used in research. Within this genus, we highlight the species *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*), a popular species commercially cultivated worldwide and which has shown anti-inflammatory, antihypertensive, antinociceptive, hypocholesterolemic, antioxidant, antitumor potential, among others.

**Objective:** To determine the influence of *Pleurotus ostreatus* extract on intestinal glucose absorption by SGLT1 in C57BL/6 mice. **Materials and methods:** The study was divided into 3 experiments, which were subdivided into tests. **Experiment 1:** Evaluate the effects of *P. ostreatus* on intestinal absorption of saccharides and blood glucose; **Experiment 2:** To analyze the influence of *P. ostreatus* on blood glucose; **Experiment 3:** To analyze the influence of repeated exposure to *P. ostreatus* extract for 21 days on intestinal glucose absorption by the SGLT1 transporter. For this, glucose levels were measured through the oral glucose tolerance test (OGTT) and through the glucose tolerance test (GTT). In both tests, a D-glucose solution (2g/kg of body weight of the mice) was administered. **Results and Conclusion:** The single oral exposure of *P. ostreatus*, as it was done, did not influence the intestinal absorption capacity of glucose. In addition, repeated exposure to *P. ostreatus* did not alter its ability to vary blood glucose, whatever the mechanism involved. However, exposure for 21 days with *P. ostreatus* increased glucose transport by SGLT1 when load glucose offered was 2g/kg. In conclusion, C57BL/6 mice submitted to a 21-day treatment with *P. ostreatus* extract at a dose of 2000 mg/kg, showed an increase in glucose transport by SGLT1. Additional analyzes are important for enrich the understanding of the mechanisms involved in the results obtained in this work

**Keywords:** Mice, mushrooms, phlorizin, glycemia.

## Lista de Figuras

- Figura 1:** Digestão dos glicídios no intestino delgado.....18
- Figura 2:** Transportador de glicose e/ou galactose através da membrana luminal dos enterócitos. Esta proteína apresenta 12 domínios intramebrânicos.....19
- Figura 3:** Absorção de glicose, galactose e frutose no intestino delgado. GLUT, transportador de glicose; SGLT1, transportador de sódio/glicose do tipo 1.....21
- Figura 4:** Concentração sanguínea de glicose após administração oral (TOTG) e intraperitoneal (TTG) de NaCl 0,9% ou extrato de *P. ostreatus* (2000 mg/kg). CTRL = grupo controle (n=12); GPO= grupo *P.ostreatus* (n=12).....32
- Figura 5:** Concentração sanguínea de glicose após administração intragástrica de NaCl 0,9%, extrato de *P. ostreatus* (2000 mg/kg). GPO 21= grupo *P.ostreatus* após o tratamento(n=8); GPO 21 + Florizina (n=12).....34
- Figura 6:** Dados expressos em média  $\pm$  DPM. GPO 21 + Florizina (n=12); GPO 21= grupo *P.ostreatus* pós tratamento (n=8).....35

## Lista de Tabelas

**Tabela 1:** Glicemia (mg/dl) ao longo do tempo após administração de *P. ostreatus* (2000mg/kg) por via oral.....31

**Tabela 2:** Peso corporal dos respectivos grupos experimentais durante o tratamento com *P. ostreatus*.....33

**Tabela 3:** Consumo alimentar individual por semana dos respectivos grupos experimentais durante o tratamento.....33

**Tabela 4:** Glicemia (mg/dl) ao longo do tempo após administração de *P. ostreatus* (2000mg/kg) por via oral.....34

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS E METAS .....</b>	<b>15</b>
2.1 Objetivo geral: .....	15
2.2 Objetivos específicos:.....	15
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>26</b>
4.1 Local de realização.....	26
4.2 Obtenção do extrato de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	26
4.3 Cálculo Amostral .....	27
4.4 Animais e grupos experimentais.....	27
4.4.1: Experimento 1: Analisar a influência do <i>P. ostreatus</i> sobre a glicemia.....	27
4.4.2 Experimento 2: Avaliar os efeitos do <i>P. ostreatus</i> sobre a absorção intestinal de sacarídeos e a glicemia .....	28
4.4.3: Experimento 3: Analisar a influência da exposição repetida ao extrato do <i>P. ostreatus</i> por 21 dias sobre a absorção de glicose intestinal pelo transportador SGLT1 .....	28
4.5 Tratamento com <i>P. ostreatus</i> .....	29
4.6 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG).....	30
4.7 Teste de tolerância à glicose (TTG).....	30
4.8 Tratamento com Florizina .....	30
4.9 Eutanásia.....	30
4.10 Análise estatística.....	30
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
5.1 Influência <i>direta</i> da administração de <i>P. ostreatus</i> (2000mg/kg) por via oral na glicemia.....	31
5.2 Influência da exposição única de <i>P. ostreatus</i> sobre o TOTG e TTG.....	31
5.3 Resultados da exposição <i>repetida</i> com <i>P. ostreatus</i> (2000mg/kg) por 21 dias...32	
5.3.1 Peso corporal e consumo alimentar.....	33
5.3.2 Influência da administração única de <i>P. ostreatus</i> (2000mg/kg) na glicemia de animais suplementados com o mesmo extrato por 21 dias .....	33
5.3.3 Participação do transportador SGLT1 na glicemia de animais expostos a dose única de <i>P. ostreatus</i> após 21 dias de suplementação com o mesmo extrato.....	34

<b>6.</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>36</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>41</b>

## 1. Introdução

Os carboidratos constituem  $\frac{3}{4}$  do mundo biológico e aproximadamente 80% do aporte calórico da humanidade (ALMEIDA *et al.*, 2008). A quantidade de carboidratos da dieta humana é variável devido a fatores culturais, geográficos e nível socioeconômico das populações (LIBERATO e OLIVEIRA, 2019). A glicose é o carboidrato mais importante e é sob essa forma que a maior parte dos carboidratos da dieta é absorvida pela corrente sanguínea, e também, é em glicose que o fígado converte os outros açúcares. Também é a partir da glicose que todos os carboidratos do organismo são formados.

No que diz respeito à classificação desses glicídios, estes dividem-se em: monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Os dissacarídeos, como os oligossacarídeos e os polissacarídeos, não atravessam a parede intestinal. Só são aproveitados como fonte de energia se previamente hidrolisados a monossacarídeos, que passam rapidamente do trato intestinal à corrente sanguínea. Os oligossacarídeos e os polissacarídeos não hidrolisados passam ao largo do intestino delgado até o intestino grosso, onde exercem efeitos benéficos como fibras. Dos polissacarídeos do mundo biológico, o homem só digere amido, glicogênio e certas dextranas (LIBERATO & OLIVEIRA, 2019).

Em relação aos processos digestivos dos referidos compostos orgânicos, esses são finalizados por enzimas luminais da borda em escova dos enterócitos do intestino delgado. As enzimas secretadas na luz do sistema gastrointestinal (SGI) denominam-se enzimas luminais (amilase) e atuam na macro digestão dos sacarídeos. Já as enzimas presentes nos enterócitos (sacarase, isomaltase, lactase e oligossacaridasas), proteínas integrais da borda em escova, atuam na finalização da digestão dos sacarídeos na única forma absorvível: monossacarídeos (SANIOTO, 2016). Portanto, esses produtos finais da digestão dos carboidratos (glicose, galactose e frutose) são absorvidos em duas etapas mediados por carregadores nas duas membranas dos enterócitos. No entanto, como as hexoses não permeiam facilmente a bicamada lipídica das membranas celulares dos enterócitos, elas precisam de carregadores específicos para serem transportadas. Neste contexto, a glicose e a galactose competem para serem transportadas pela membrana luminal pela proteína carreadora conhecida como transportador de sódio-glicose (SGLT1). Sendo assim, a absorção intestinal de glicose e de galactose através da membrana

luminal é um transporte ativo secundário acoplado ao influxo de sódio (Na<sup>+</sup>). Já na membrana basolateral, a glicose e a galactose são transportadas passivamente por difusão facilitada mediada pelo carregador pertencente à família dos GLUTs (transportadores de glicose, do inglês glucose transporters), no caso, o GLUT2 (SANIOTO,2016). Florizina (glicose,1- [2- (beta. D-glicopiranosil) -4,6-dihidroxifenil] -3-(4-Hidroxi fenil) -1- propanona) é um membro da classe chalcona de compostos orgânicos; consiste em uma porção de glicose e dois anéis aromáticos unidos por um espaçador de alquila, a qual inibe de forma específica e competitiva tanto o SGLT1 quanto o SGLT2, o qual é responsável pela reabsorção renal de glicose. A florizina não afeta os transportadores facilitadores de glicose, GLUT 1 a 12 (EHRENKRANZ *et al.*, 2005).

Sobre o carreador SGLT1, estudos mostraram que esse transportador é desregulado em doenças como diabetes mellitus tipo 2 e a obesidade, visto que, a sua expressão é estreitamente associada à composição da dieta (STEARNS *et al.*, 2010). Logo, o consumo de dieta rica em glicose leva a um aumento na expressão de SGLT1 e na capacidade de captação de glicose no dia seguinte. Da mesma forma, dietas ricas em frutose também induzem aumento da expressão e função de SGLT1, embora a frutose não seja ela própria um substrato de SGLT1 (STEARNS *et al.*, 2010).

Tendo em vista os inúmeros problemas de saúde causados por uma alimentação inadequada, estudos de alimentos com substâncias bioativas, têm o potencial de contribuir positivamente para saúde da população ao reduzir o risco de doenças crônicas, além de conter substâncias que auxiliam na promoção da saúde, trazendo com isso uma melhora no estado nutricional.

Neste contexto podemos destacar os cogumelos. Já são bem conhecidos seus efeitos benéficos como, por exemplo: imunomoduladores, anti-hipertensivos, antiobesogênicos, antioxidantes, anticancerígenos, etc (CHANG; WASSER, 2018).Dentre vários cogumelos, os do gênero *Pleurotus* têm sido bastante utilizados em pesquisas científicas de forma in natura, como extratos e com seus compostos isolados (CHANG; WASSER, 2018). Dentro deste gênero, destacamos a espécie *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*), uma espécie popular cultivada comercialmente em todo o mundo (BAEVA *et al.*, 2019).Assim como outras espécies de cogumelos, tem sido mostrado que o *P. ostreatus* apresenta potencial anti-inflamatório, anti-hipertensivo, antinociceptivo, hipocolesterolemizante, antioxidante, antitumoral, etc (BARBOSA *et al.*, 2020) (ĆILERDŽIĆ *et al.*, 2019) (DICKS; ELLINGER, 2020)

(BAEVA *et al.*, 2019) (WONG *et al.*, 2020) Além disso, o *P. ostreatus* é nutritivo por ter em sua constituição vitaminas, minerais, complexos de polissacarídeos e glicoproteínas (BARBOSA *et al.*, 2020). Num estudo piloto realizado em nosso laboratório, verificamos que o extrato de *P. ostreatus* administrado nas doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg não variou significativamente a glicemia dos camundongos. No entanto, a dose de 2000 mg/kg foi a que mais variou negativamente a glicemia, atingindo sua maior influência 60 minutos após sua administração por via oral (DEGRANDIS, 2021).

Portanto, propusemo-nos a definir a regulação de curto e longo prazo em resposta à glicose ou análogos de glicose em camundongos C57BL/6. Nosso foco foi avaliar a influência do extrato de *P. ostreatus* na absorção da glicose pelo SGLT1.

## **2. Objetivos e Metas**

### **2.1 Objetivo geral:**

- Determinar a influência do extrato de *Pleurotus ostreatus* na absorção intestinal de glicose pelo SGLT1.

### **2.2 Objetivos específicos:**

- Avaliar se o *P. ostreatus* influencia na glicemia de camundongos;
- Analisar se o *P. ostreatus* exerce influência sobre a absorção de glicose intestinal;
- Analisar se a exposição prévia com extrato de *P. ostreatus* modula o transporte de glicose pelo SGLT1;
- Determinar o papel do SGLT1 sobre os efeitos do *P. ostreatus* na absorção de glicose intestinal;

### 3. Revisão Bibliográfica

Os carboidratos são moléculas feitas de carbono, hidrogênio e oxigênio, numa proporção de aproximadamente um átomo de carbono (C) para cada molécula de água (H<sub>2</sub>O). Dessa composição origina seu nome: carbono (carbo-) mais água (-hydrate) “Carboidratos”) (CARBOHYDRATES - BIOLOGY). Eles representam um componente importante da dieta, visto que são fonte de energia para o corpo. (PINHEIRO *et al.* 2005) Quanto a sua classificação, eles são divididos em três categorias: polissacarídeos, dissacarídeos e monossacarídeos, esse último a forma mais simples de serem encontrados no sistema digestório (DROZDOWSKI; THOMSON, 2006).

Os monossacarídeos podem ser poliidroxialdeídos (aldose) ou poliidroxicetonas (cetose), sendo os mais importantes a glicose, a frutose e a galactose. O primeiro deles está presente em sucos de frutas e na hidrólise do amido, do açúcar de cana, da maltose e da lactose. A frutose é encontrada em mel e frutas. Já a galactose, não é encontrada na forma livre na natureza, sendo liberada pela digestão enzimática da lactose (açúcar do leite) no sistema digestório (DROZDOWSKI; THOMSON, 2006).

Os dissacarídeos são formados pela união de dois monossacarídeos por ligações glicosídicas, sendo os mais importantes a sacarose, lactose e maltose. A sacarose, conhecida como açúcar de mesa, é formada pelos monossacarídeos glicose + frutose e está presente na cana de açúcar, açúcar de beterraba, melaço, xarope de bordo, xarope de milho, açúcar de bordo, frutas, vegetais e mel. A lactose, o açúcar presente no leite, é um dissacarídeo formado por galactose e glicose. A maltose, que não é encontrada livre na natureza, é o açúcar do malte. Ela é produzida durante a digestão por enzimas que quebram grandes moléculas de amido em fragmentos de dissacarídeos e, assim, podem ser quebrados em duas moléculas de glicose para facilitar a absorção (DROZDOWSKI; THOMSON, 2006).

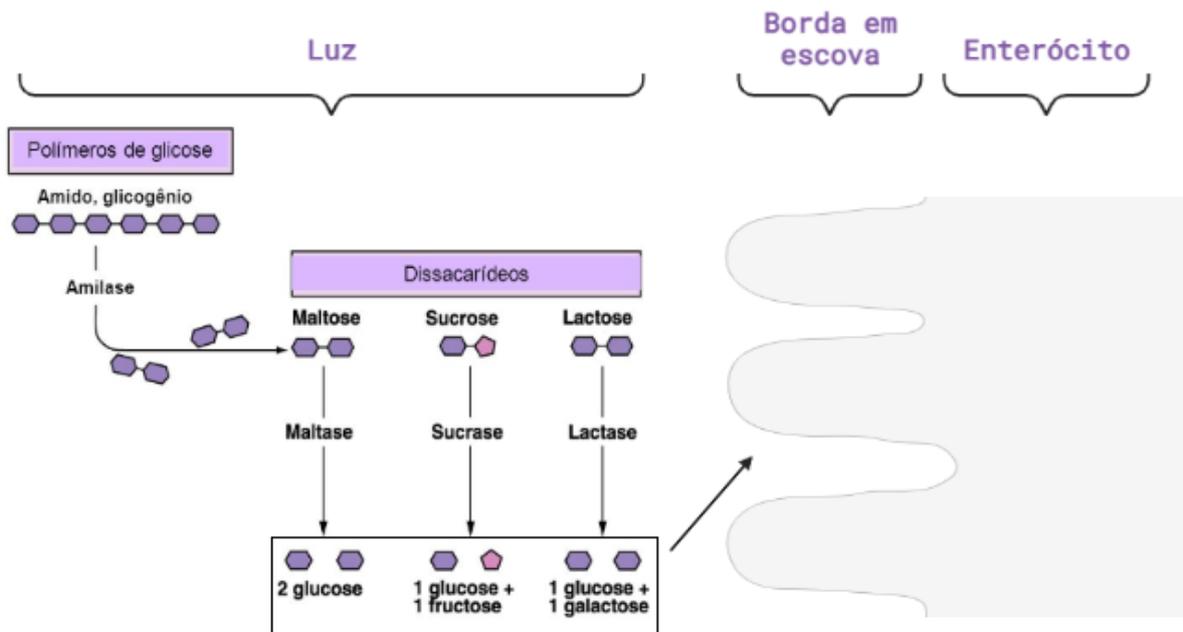
Dos polissacarídeos do mundo biológico, o homem só digere o amido, o glicogênio e certas dextranas, as quais são menos solúveis e mais estáveis que os açúcares simples. O amido é encontrado em grãos e vegetais (principalmente leguminosas e tubérculos), e é composto de uma mistura de dois polissacarídeos, amilose e amilopectina. A amilose é constituída por centenas de moléculas de glicose associadas entre si de forma não ramificada. Cada ligação efetua-se entre o carbono 1 de uma molécula de glicose e o carbono 4 da molécula seguinte. No caso da amilopectina, este composto é formado por cadeias principais de glicose com

ligações do tipo  $\alpha$ -1,4 e cadeias laterais ramificadas constituídas a partir de ligações glicosídicas do tipo  $\alpha$ -1,6. O glicogênio, encontrado em produtos cárneos e frutos do mar, apresenta estrutura e composição semelhantes às da amilopectina e constitui a reserva energética dos animais, sendo armazenado em maior quantidade no fígado e, em menor quantidade, no músculo. A dextrina constitui os produtos intermediários da hidrólise do amido. Além dos polissacarídeos digeríveis, temos também aqueles que são parcialmente digeridos e os não digeríveis pelo trato gastrointestinal, sendo eles: celulose e hemicelulose, os quais constituem a estrutura celular dos vegetais, e podem ser achados em talos e folhas de vegetais; as pectinas, que estão presentes em algumas frutas; e as gomas e mucilagens, as quais podem ser encontrados em sementes e secreções vegetais (DROZDOWSKI; THOMSON, 2006).

A maioria dos carboidratos ingeridos se encontram na forma de polissacarídeos, sendo necessária a ação de enzimas digestivas para reduzi-los quimicamente em sacarídeos mais simples, aqueles capazes de serem absorvidos. Além das amilases presentes na saliva e na secreção pancreática, as dissacaridases intestinais atuam de forma importante para finalizar a digestão dos sacarídeos. Somente essas enzimas presentes na borda em escova dos enterócitos são capazes de finalizar a digestão em monossacarídeos e, assim, possibilitar a absorção desses (BÁRBARA GRAZIELA, 2015) (Figura 1).

Seguindo o fluxo do alimento, a digestão dos carboidratos inicia na cavidade oral. A boca é importante para a ruptura mecânica do alimento e para o início da digestão. A mastigação divide e mistura o alimento com as enzimas amilase salivar e lipase lingual, assim como com a glicoproteína mucina, que lubrifica o alimento para a mastigação e a deglutição. Com relação ao amido, molécula complexa de glicose, ele é digerido em etapas: início da digestão pela  $\alpha$ -amilase (ou ptialina), presente na saliva, a qual degrada a ligação  $\alpha$ -1,4 da molécula de amido. Ao atingir o estômago a enzima é inativada pelo baixo pH gástrico, e é nesse local em que esse tipo de carboidrato fica em torno de uma hora, em que continua a ser digerido através da ação de mistura pelas peristalses gástricas. Posteriormente, a digestão dos glicídios prossegue no intestino delgado, através da enzima  $\alpha$ -amilase pancreática, a qual é secretada pelo pâncreas. Logo, a enzima  $\alpha$ -amilase pancreática, principal responsável pela degradação de amido e glicogênio no duodeno, forma, principalmente, maltose e oligossacarídeos chamados dextrinas (Figura 1).

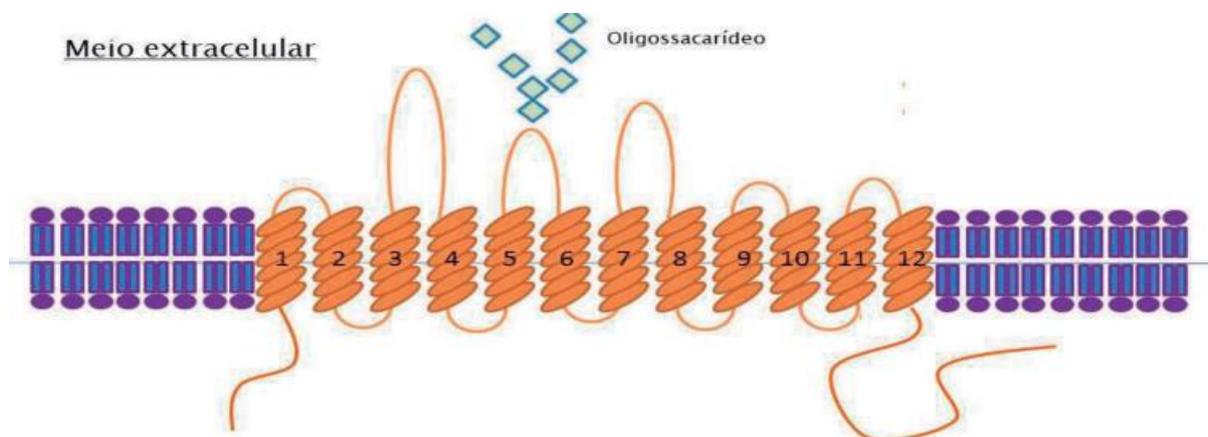
A sacarose ou açúcar comum será digerido pela sacarase, enzima encontrada no intestino delgado, a qual degrada o açúcar em glicose e frutose, ambos absorvidos pelo intestino. O leite contém outro açúcar chamado lactose, o qual sofre a ação da lactase no intestino delgado, transformando-se em moléculas absorvíveis (LIBERATO & OLIVEIRA, 2019) (Figura 1).



**Figura 1:** Digestão dos glicídios no intestino delgado. Fonte: Adaptado do livro silverthorn.

Logo, após a digestão desses compostos, têm-se os produtos finais dos carboidratos, através da ação das enzimas luminiais e da borda em escova, que são a glicose, galactose e frutose. No estado pós prandial, concentrações elevadas de glicose são atingidas no lúmen intestinal, e neste momento a absorção da glicose ocorre através de um sistema combinado, em que primeiro atua o carregador transportador de glicose dependente de sódio (SGLT1), do inglês *sodium-glucose linked transporter*, tipo 1 (SGLT1), pertencente à família *solute carrier family 5 sodium/glucose cotransporter, member 1* (SLC5A), o qual foi o primeiro carregador de hexoses a ser descrito. A família do cotransportador de sódio/glicose (SLCA5) contém mais de 200 membros encontrados em células animais e bacterianas. O cotransportador é uma proteína de membrana de 73 kDa com uma estequiometria de  $\text{Na}^+:\text{glicose}$  de 2:1. Os SGLTs apresentam 12 segmentos transmembrânicos hidrofóbicos(s), a alça extracelular de ligação entre S5 e S6 é potencial sítio de

glicosilação, e as terminações NH<sub>2</sub> e COOH estão localizadas no citosol. No entanto, o domínio COOH altamente hidrofóbico, deve encontrar-se em contato direto com a superfície interna da membrana plasmática (MACHADO, 1998) (Figura 2).



**Figura 2:** Transportador de glicose e/ou galactose através da membrana luminal dos enterócitos. Esta proteína apresenta 12 domínios intramebrânicos.

Por meio desse transportador, ocorre o acoplamento do influxo de 1 mol de glicose ou de galactose ao de 2 moles de íon Na<sup>+</sup>. Dessa forma, nota-se que o carreador em questão consiste em um cotransportador eletrogênico, que funciona na proporção 2 Na<sup>+</sup> para 1 glicose (ou galactose). Assim, podemos concluir que, com o objetivo de que o transporte ocorra adequadamente, é necessário que haja tanto o gradiente químico para o íon Na<sup>+</sup> através da membrana luminal (mantido pela Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase da membrana basolateral), quanto o potencial elétrico da membrana luminal (Figura 3).

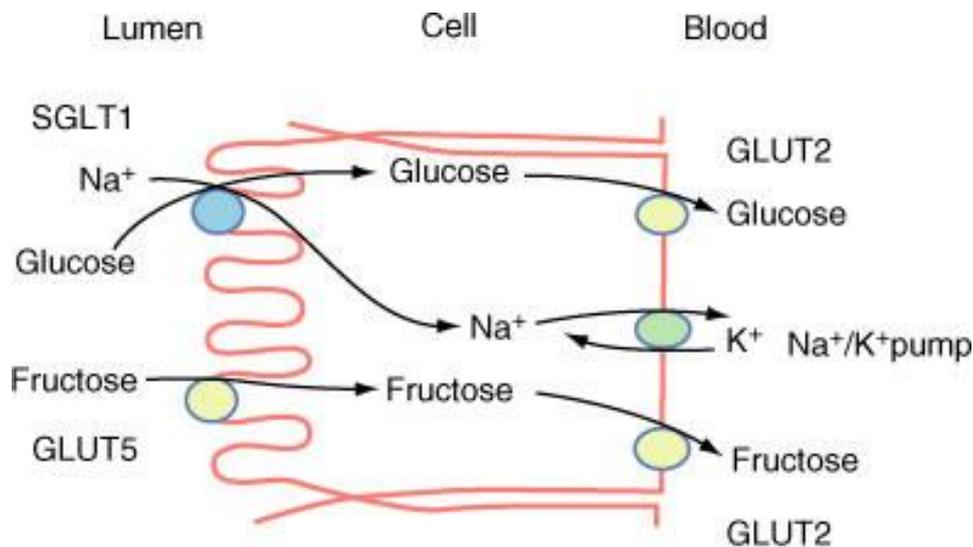
O transportador SGLT1 tem a mesma afinidade para glicose e galactose e o transporte é sensível à florizina (um inibidor competitivo do SGLT1 com uma constante de inibição ou K<sub>i</sub> = 0,1 mM, ou seja, alta inibição) (DROZDOWSKI; THOMSON, 2006). A florizina é uma molécula encontrada na casca da raiz, folhas, brotos e frutos da macieira, e foi descoberta há mais de 150 anos (RIEG; VALLON, 2018). Portanto, por atuar na inibição da absorção intestinal de glicose, a florizina é um importante alvo de estudo para a descoberta de novas terapias anti-diabéticas (DROZDOWSKI; THOMSON, 2006). Estudos prévios utilizando florizina mostraram que quando administrada no período de 4hs e 12 hs, após a administração de glicose, não houve diferença nos níveis glicêmicos entre os dois tempos (FREITAS

*et al.* 2007) em virtude de o composto apresentar uma meia vida curta (RIEG; VALLON, 2018).

Há dois tipos de transportadores SGLT: SGLT1 e SGLT2. O transportador SGLT1, responsável pela absorção intestinal de glicose, tem alta afinidade pela glicose, mas baixa capacidade. Já a reabsorção renal de glicose é feita pelo SGLT1 e SGLT2, o qual, diferente do SGLT1, possui baixa afinidade pela molécula de glicose, porém alta capacidade, realizando o cotransporte de dois íons sódio para cada molécula de glicose (MACHADO, 1998). Contudo, este modelo não explica a absorção intestinal perante altas concentrações luminiais de glicose (>50mM), que ocorrem após a ingestão de uma refeição quando o SGLT1 já está saturado (o que acontece por volta dos 30-50mM). In vivo o que se verifica é que a absorção intestinal de glicose aumenta linearmente, parecendo não ser saturável, com o aumento da concentração de glicose luminal. Por isso, o modelo clássico tem sido recentemente posto em causa por muitos investigadores (ARAÚJO; MARTEL, 2009).

Em nível da membrana apical, várias evidências demonstraram a existência de um segundo mecanismo de transporte de glicose, para além da via SGLT1, que poderá corresponder a presença do transportador GLUT2 ao nível apical, designando-se modelo GLUT2 apical. Esta hipótese foi reforçada com a identificação do GLUT2 ao nível de membrana apical, por meio de análise de imunocitoquímica e por imunoflorescência (ARAÚJO; MARTEL, 2009). Paralelamente a isso, na membrana luminal, o transporte de frutose é mediado pelo GLUT5, por meio de um processo de difusão facilitada, independente de acoplamento com o Na<sup>+</sup> (SANIOTO, 2016) (Figura 3).

Na membrana basolateral, tanto a glicose quanto a galactose são transportadas passivamente, por meio do processo de difusão facilitada, o qual é mediado, nesse caso, pelo GLUT2. Estes transportadores pertencem à família dos GLUTs, os quais são responsáveis pela absorção da glicose em diversos tecidos (BÁRBARA GRAZIELA, 2015) (Figura 3).



**Figura 3:** Absorção de glicose, galactose e frutose no intestino delgado. GLUT, transportador de glicose; SGLT1, transportador de sódio/glicose do tipo 1.

No enterócito, além da absorção facilitada da glicose mediada pelo GLUT2, o mesmo transporta também a frutose, a galactose e a manose. Contudo, antes de uma refeição, quando há menor presença de glicose no lúmen, o GLUT2 está suprimido na membrana apical, desempenhando apenas o papel na membrana basolateral através do transporte de glicose do enterócito para a corrente sanguínea. Nesse momento está operando na membrana apical somente o SGLT1, o qual possui alta afinidade por glicose (BÁRBARA GRAZIELA, 2015). Estas características permitem o transporte eficiente de glicose após uma refeição.

Uma vez na corrente sanguínea (glicemia), a glicose vai para o fígado onde é armazenada ou utilizada para promover energia para o funcionamento do corpo (SANIOTO, 2016). Os carboidratos, por serem uma significativa fonte de glicose, desempenham um papel importante na homeostasia energética, visto que a glicose é um monossacarídeo essencial para diversas rotas bioquímicas, que são responsáveis pela homeostase do organismo (DROZDOWSKI; THOMSON, 2006). A rota glicolítica é empregada por todos os tecidos para degradação de glicose e fornecimento de energia (na forma de ATP) e intermediários para outras rotas metabólicas. A concentração de glicose no sangue é regulada por uma complexa interrelação de muitas vias e modulada por vários hormônios. A glicogênese é a conversão de glicose a glicogênio, enquanto a glicogenólise é a reversão do glicogênio em glicose.

Um nível normal de glicose sanguínea, abaixo de 100mg/dL, é rigidamente

mantido e alcançado pelo equilíbrio entre a taxa de captação de glicose por todos os tecidos e a taxa de síntese hepática e renal. Após uma refeição, um aumento rápido na quantidade de glicose sanguínea estimula a secreção de insulina, resultando em um aumento temporário de sua concentração no sangue, conhecido como hiperinsulinemia (PAIVA, 2014). A insulina é um hormônio secretado pelas células  $\beta$  nas ilhotas pancreáticas e atua estimulando as células a consumirem glicose, embora também afete o metabolismo de todos os carboidratos, gorduras e proteínas (HABER *et al.*, 2001). A velocidade de transporte da glicose no sangue, bem como de alguns outros monossacarídeos, é acentuadamente aumentada pela insulina. Quando o pâncreas secreta grande quantidade de insulina a velocidade de transporte é aumentada em 10 a 20 vezes, em relação à velocidade observada na ausência da secreção de insulina. A quantidade de glicose passível de se difundir para o interior da maioria das células, na ausência de insulina, à exceção dos hepatócitos e neurônios, é insuficiente para o metabolismo energético. A falta de insulina leva a anormalidades no metabolismo de nutrientes essenciais, incluindo carboidratos, lipídios e proteínas. Além disso, a inflamação e o estresse oxidativo são os precursores das complicações do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (TAVARES; FLUMINENSE, 2017).

Portanto, estudos de alimentos com substâncias bioativas capazes de serem utilizadas nas dietas e na fabricação de produtos alimentícios têm o potencial de contribuir positivamente para saúde da população ao reduzir o risco de doenças crônicas, além de conter substâncias que auxiliam a promoção da saúde, trazendo com isso uma melhora no estado nutricional. Neste contexto podemos destacar os cogumelos (CHANG; WASSER, 2018). O cogumelo, um membro do reino dos fungos, tem atraído um interesse significativo em aplicações medicinais devido às suas inúmeras propriedades bioativas. Seu uso para a promoção e manutenção de um bom estado de saúde e o tratamento de doenças existe desde os tempos antigos nas regiões asiáticas, enquanto no ocidente essa abordagem é consideravelmente mais recente. Cogumelos medicinais são relatados como tendo inúmeras ações farmacológicas, como propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória, imunomoduladora, antidiabética, citotóxica, antioxidante, hepatoprotetora, anticâncer, antioxidante, antialérgica, anti-hiperlipidêmica, prebiótica, entre outras (VENTURELLA *et al.*, 2021).

As informações sobre sua composição química, valor nutricional e propriedades terapêuticas têm se expandido nos últimos anos. Os cogumelos

contêm 50 a 65% de carboidratos totais, 19 a 35% de proteínas (com várias atividades biológicas e medicinais, como as lectinas) e 2 a 6% de gordura em sua matéria seca. Os ácidos graxos insaturados são predominantes sobre os ácidos graxos saturados, especialmente o ácido palmítico, o ácido oleico e o ácido linolêico, enquanto a proporção de ácidos graxos linolênicos é muito limitada. Os polissacarídeos aumentam o valor nutricional dos cogumelos, sendo estabelecido que os cogumelos são alimentos com inúmeras propriedades nutraceuticas, devido a presença de moléculas bioativas. Os polissacarídeos têm uma forte capacidade de transportar informações biológicas, possuem atividade antitumoral, imunomoduladora, antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e antidiabética. Os mais conhecidos e mais abundantes são  $\alpha$ - e  $\beta$ -glucanos. (VENTURELLA *et al.*, 2021).

Cogumelos e polissacarídeos derivados de cogumelos demonstraram ter propriedades terapêuticas contra a síndrome metabólica, que é caracterizada por obesidade, hiperglicemia associada a diabetes, hipercolesterolemia e hipertensão.

Estudos detalhados de Kanagasabapathy *et al.*, 2012 mostraram que  $\beta$ -glucanas ricas em polissacarídeos (240 mg / kg de peso corporal) de cogumelos *Pleurotus sajor-caju* impediram a ocorrência de hiperglicemia e hiperinsulinemia/ resistência à insulina em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica. Dessa forma, os camundongos mostraram aumento da expressão do transportador de glicose de resposta à insulina (GLUT-4) e dos genes antidiabéticos, hormônios antiaterogênicos da adiponectina e regulação negativa da expressão do fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) que controla a regulação de genes que codificam proteínas envolvidas em respostas imunes e inflamatórias incluindo interleucina-6 (IL-6). Tal melhora se assemelhou a promovida pela terapêutica tradicional com a utilização do medicamento antidiabético metformina (KANAGASABAPATHY *et al.*, 2012)

Outra classe de compostos muito importantes por sua bioatividade são os terpenos, caracterizados por unidades de átomos de isopreno com cinco carbonos e cuja adição de grupos funcionais dá origem aos terpenoides. Eles modulam o sistema imunológico ao estimular a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas na resposta imunológica, mas também têm propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antitumorais (VENTURELLA *et al.*, 2021).

Os cogumelos são ricos em proteínas, que apresentam propriedades citotóxicas e anticancerígenas. Essas proteínas são indicadas como proteínas imunomoduladoras fúngicas. Outros metabólitos fúngicos com bioatividade são

compostos fenólicos, antioxidantes com diferentes mecanismos de ação (sequestrante de oxigênio, inativação de metais, inibição de radicais livres, decomposição de peroxidase), lacases (oxidases contendo cobre) e ácidos graxos (VENTURELLA *et al.*, 2021).

O gênero *Pleurotus spp*, conhecido popularmente como cogumelo ostra, shimejii ou hiratake, são fungos saprofíticos pertencentes a família *Pleurotaceae* que possuem cores variadas de acordo com a espécie e as condições de cultivo.

Dentro do gênero *Pleurotus*, destacamos o *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*), o qual é ainda chamado de cogumelo ostra, devido a sua forma e também por ser tradicionalmente conhecido como um dos cogumelos comestíveis mais nutritivos e saborosos. É um dos fungos comestíveis mais cultivados no mundo, e em 1995, ocupava o quarto lugar da produção mundial de cogumelos comestíveis (PASIZNICK APATI, 2004).

*P. ostreatus* é considerado uma boa opção de dieta por causa de seu elevado valor nutricional, visto que é rico em proteína, fibra, carboidrato, vitaminas e minerais, e tem baixo valor calórico, gorduras e sódio, contendo lisina, arginina e treonina em altas concentrações. Essa espécie de cogumelos tem 90,8% de água e sua composição centesimal em base seca é: 30,4% de proteína; 2,2% de gordura; 48,9% de carboidratos; 8,7% de fibra e 9,8% de cinzas e seu valor energético é de 345 kcal (PASIZNICK APATI, 2004).

O consumo de *P. ostreatus* traz benefícios para o metabolismo da glicose e dos lipídios, em virtude de o cogumelo ser rico em ingredientes funcionais (por exemplo,  $\beta$ -glucanos). De acordo com o trabalho de revisão, oito estudos incluíram efeitos benéficos observados da ingestão de *P. ostreatus* no metabolismo da glicose (redução no jejum e/ou glicose pós-prandial de 2 h) e lipídios (diminuição no colesterol total, colesterol LDL e / ou triglicerídeos). Além disso, também foi encontrado uma redução da pressão arterial (DICKS; ELLINGER, 2020). Assim como com a utilização de cogumelos *P. ostreatus*, achados prévios do nosso grupo mostraram uma redução da ingestão alimentar e do peso corporal de camundongos suplementados com *P. albidus* na dosagem de 500mg/kg por 20 dias consecutivos (DA COSTA *et al.*, 2021).

De acordo com estudos de ZHANG *et al.*, 2016, foi mostrado que doses de 100, 200 e 400mg/kg de *P.ostreatus* reduziram a glicemia de animais diabéticos fazendo com que a translocação de GLUT4 fosse estimulada para membrana (ZHANG *et al.*, 2016). Corroborando a esses achados, XIONG *et al.*, 2018, através

da avaliação da influência *in vivo* e *in vitro* do *P. ostreatus*, também mostraram a capacidade desse cogumelo em estimular a expressão e translocação do GLUT4 (XIONG *et al.*, 2018).

Tendo em vista esses dados importantes, o *P. ostreatus* mostra-se ser um aliado no controle glicêmico, e espera-se que ele atue sobre o transportador SGLT1, reduzindo a absorção de glicose intestinal. Além disso, dados de um estudo utilizando outros compostos, como extratos de folhas e frutos de goiaba, indicaram o potencial dos extratos para inibir GLUT2 e SGLT1 e, portanto, reduzir o transporte intestinal de glicose *in vitro* (células Caco-2) e *in vivo* (camundongos C57BL/6N) (MÜLLER *et al.*, 2018).

No entanto, embora o número de pesquisas utilizando o *P. ostreatus* tenha crescido demasiadamente nos últimos anos, ainda há diversos pontos a serem explorados sobre esse assunto, como detalhes da ação do extrato do cogumelo sobre a ação do transportador SGLT1 na absorção intestinal da glicose. Ou seja, se existe mesmo essa ação do cogumelo sobre o transportador, e se sim, como ela realmente se comporta. Assim como, analisar também a forma que o cogumelo é cultivado, preparo do extrato, a dose utilizada, pontos os quais são muito importantes para êxito do estudo. Portanto, esse trabalho visa adicionar conhecimento a respeito dessa temática.

## **4. Metodologia**

### **4.1 Local de realização**

A pesquisa foi desenvolvida nas dependências do laboratório de fisiologia cardiovascular do departamento de fisiologia e farmacologia da UFPel e no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas.

Os camundongos foram alojados em gaiolas com as seguintes características: medidas 30x20x13 cm, feitas de polipropileno com tampa em arame galvanizado, com bebedouro em polipropileno com capacidade de 700 mL, rolha cônica de borracha e bico de aço inoxidável reto. O assoalho foi coberto por maravalha. As gaiolas continham no máximo 4 animais, sob condições adequadas de temperatura e umidade (22-24°C e 40-60%, respectivamente, e ciclo de claro/escuro de 12 horas). O peso dos animais foi avaliado uma vez por semana até a data da eutanásia. Os animais de todos os grupos receberam ração padrão para roedores marca Nuvilab *ad libitum* e o consumo alimentar foi monitorado uma vez por semana pela diferença em gramas entre a quantidade ofertada e a quantidade restante em 24 horas.

### **4.2 Obtenção do extrato de *Pleurotus ostreatus***

Foi utilizada a linhagem pertencente a coleção da empresa Fungi Brasilis - Biguaçu - SC sob denominação #90 de *P. ostreatus*. Os basidiomas foram cultivados em sacos de polipropileno, contendo 3 kg 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 8 horas 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 situada nas coordenadas -31.4817339,-52.5637442.

Os cogumelos foram secos em desidratador (Funkitchen®) durante 8h, a 50°C, triturados em moedor (Cadence®) e armazenados a 4 °C. Posteriormente, 1 g de

basidioma foi mantido em agitação por 30min com 10 mL de água fervente (100 °C). As suspensões resultantes foram centrifugadas a 3220 g durante 15min a 4° C para obtenção do extrato. Posteriormente, para obtenção do extrato, a biomassa foi centrifugada, liofilizada e separada para uso.

### **4.3 Cálculo Amostral**

O cálculo do tamanho amostral foi efetuado através da plataforma do site [http://calculoamostral.bauru.usp.br/calculoamostral/ta\\_diferenca\\_media\\_independente.php](http://calculoamostral.bauru.usp.br/calculoamostral/ta_diferenca_media_independente.php) disponível para livre acesso. No cálculo do tamanho da amostra foram utilizados dados de glicemia apresentados por JAYASURIYA *et al.*, 2012. O n calculado foi de 11 animais por grupo, considerados probabilidade de erro  $\alpha = 0,05$  e poder do teste estatístico  $(1 - \beta) = 0,95$ . No entanto, tendo em vista que utilizamos animais do sexo feminino e masculino, ajustamos o n para 12 animais por grupo, para equiparar os gêneros. Totalizando 48 animais da linhagem C57BL/6.

### **4.4 Animais e grupos experimentais**

O projeto foi dividido em 3 experimentos, sendo estes subdivididos em testes.

#### **4.4.1 Experimento 1: Analisar a influência do *P. ostreatus* sobre a glicemia**

Após adaptação ao manuseio pelo pesquisador responsável, os animais foram submetidos aos protocolos experimentais descritos abaixo.

**Teste 1.1:** avaliamos a influência do extrato de *P. ostreatus* sobre a glicemia. Para isso, a glicemia foi medida no tempo zero (pré administração de *P. ostreatus*) e após 30 e 60 minutos da administração de extrato na dose de 2000 mg/kg por via intragástrica em 12 camundongos C57Bl/6 (6 fêmeas e 6 machos).

#### **4.4.2: Experimento 2: Avaliar os efeitos do *P. ostreatus* sobre a absorção intestinal de sacarídeos e a glicemia**

Foram utilizados 48 camundongos machos e fêmeas da linhagem C57BL/6 com aproximadamente 60 dias, provenientes do Biotério do Campus Capão do Leão da UFPel. Esses foram divididos em dois grupos experimentais (n=16) controle (n=32) GPO.

1)Grupo controle (CTRL): camundongos que receberam veículo (NaCl (0,9%);

2) Grupo *P. ostreatus* (GPO): camundongos receberam extrato do *P. ostreatus* na dose de 2000mg/kg

Foi dado período de uma semana entre os testes experimentais e, entre esses, os animais foram mantidos em condições padrão de biotério.

**Teste 2.1:** primeiramente os animais do grupo GPO receberam extrato de *P. ostreatus* por via intragástrica (2000mg/kg) e após 60 minutos foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (**TOTG**). Animais do grupo controle passaram pelo mesmo procedimento, mas receberam apenas solução de NaCl 0,9% no mesmo volume.

**Teste 2.2:** animais do grupo GPO receberam extrato de *P. ostreatus* por via intragástrica (2000mg/kg) e após 60 minutos foi realizado o teste de tolerância a glicose (**TTG**). Animais do grupo controle passaram pelo mesmo procedimento, mas receberam apenas solução de NaCl 0,9% no mesmo volume.

#### **4.4.3: Experimento 3: Analisar a influência da exposição repetida ao extrato do *P. ostreatus* por 21 dias sobre a absorção de glicose intestinal pelo transportador SGLT1**

Para realização do experimento 3 foram utilizados os mesmos animais dos experimentos prévios. Para isso, 48 camundongos machos (n=24) e fêmeas (n=24) da linhagem C57BL/6 foram mantidos em condições padrão do biotério central da UFPel sem manipulação experimental por sete dias. Passado esse período, foram divididos aleatoriamente em 2 grupos experimentais:

1) Grupo controle (GC, n=16): camundongos que receberam veículo (NaCl (0,9%) por via intragástrica por 21 dias;

2) Grupo *P. ostreatus* 21 dias (GPO 21, n=32): camundongos que receberam extrato do *P. ostreatus* na dose de 2000mg/kg por via intragástrica por 21 dias.

Ao término do tratamento, os animais foram submetidos aos seguintes procedimentos.

**Teste 3.1:** avaliamos a influência do extrato de *P. ostreatus* sobre a glicemia. Para isso, a glicemia foi medida no tempo zero (pré administração de *P. ostreatus*) e após 30 e 60 minutos da administração de extrato na dose de 2000 mg/kg por via intragástrica em 12 camundongos C57Bl/6 (6 fêmeas e 6 machos).

**Teste 3.2:** foram repetidos os procedimentos do TOTG do experimento 2. Ou seja, os animais do grupo GPO 21 (n=8) receberam extrato de *P. ostreatus* por via intragástrica (2000mg/kg) e após 60 minutos foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (**TOTG**). Animais do grupo controle (n=8) passaram pelo mesmo procedimento, mas receberam apenas solução de NaCl 0,9% no mesmo volume.

**Teste 3.3:** animais do grupo GPO 21 (n=12) receberam dose única de 0,4 g/kg de Florizina (Sigma, Washington, DC, EUA) por via subcutânea para inibir o transportador SGLT1 (FREITAS *et al.*, 2007). Após 4 horas, os animais receberam extrato de *P. ostreatus* por via intragástrica (2000mg/kg) e após 60 minutos foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (**TOTG**).

#### ***Peso corporal e consumo alimentar***

O peso dos animais foi avaliado uma vez por semana durante o período de tratamento até a data da eutanásia. Os animais de todos os grupos receberam ração padrão para roedores marca Nuvilab *ad libitum* e o consumo alimentar foi monitorado uma vez por semana pela diferença em gramas entre a quantidade ofertada e a quantidade restante.

Após o experimento três, todos os animais foram devidamente anestesiados, e posteriormente, eutanasiados. Após a eutanásia, foram coletados pulmão, coração e uma porção do intestino delgado dos animais, para futuras análises.

#### ***4.5 Tratamento com P. ostreatus***

O extrato de *Pleurotus ostreatus* liofilizado foi diluído em água destilada e administrado em dose única nos experimentos um e dois e diariamente (1 vez ao dia entre 14-16h) por via intragástrica na dose de 2000 mg/kg por 21 dias ininterruptos (DEGRANDIS, 2021). Os animais do grupo controle passaram pelo mesmo procedimento, porém receberam apenas solução de NaCl 0,9% no mesmo volume.

#### **4.6 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)**

Para realização do TOTG os animais foram mantidos em jejum por 4 horas. Feito isso, foi administrada uma solução de D-glicose (2g/kg) por via intragástrica e a glicemia foi mensurada utilizando glicosímetro (AccuChek Active, Roche Diagnostics®, USA) nos seguintes tempos: 0, 30, 60, e 120 minutos (XIONG *et al.*, 2018).

#### **4.7 Teste de tolerância à glicose (TTG)**

Em jejum de 4 horas os animais receberam solução de D-glicose (2g/kg) por via intraperitoneal e mensurada a glicemia nos tempos: 0, 15, 30 e 60 minutos (DE SOUZA CARDOSO *et al.*, 2017).

#### **4.8 Tratamento com Florizina**

Para inibição do transportador SGLT1 foi administrada Florizina (Sigma, Washington, DC, EUA) em dose única (0,4 g/kg) por via subcutânea (FREITAS *et al.*, 2007). Após 4 horas, foi realizado o TOTG.

#### **4.9 Eutanásia**

Todos os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por exsanguinação por punção cardíaca, conforme Resolução Normativa N° 12, de 20 de setembro de 2013 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.

#### **4.10 Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas usando o *software* GraphPad Prism 8.0 e os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média. Para os resultados de variação de peso e glicemia foi utilizada ANOVA de 1 e 2 vias, e teste T. O teste de Bonferroni foi utilizado de forma a complementar as análises de variância, aceitando o nível de significância de 5%.

## 5. Resultados

### 5.1 Influência *direta* da administração de *P. ostreatus* (2000mg/kg) por via oral na glicemia

A tabela 1 mostra os valores glicêmicos após administração de dose única de *P. ostreatus* por via oral. Observamos um aumento significativo na glicemia do grupo GPO entre o tempo zero e 30 minutos ( $P=0,02$ ). Após 60 minutos, a glicemia do GPO retornou para valores próximos da glicemia basal, assim como o grupo controle, que não variou a glicemia ao longo de todo período ( $P=0,975$ ).

**Tabela 1:** Glicemia (mg/dl) ao longo do tempo após administração de *P. ostreatus* (2000mg/kg) por via oral

Tempo (min)/Grupos	GPO
Zero	127 ± 12,7
30'	159 ± 6,5*
60'	148 ± 29,7

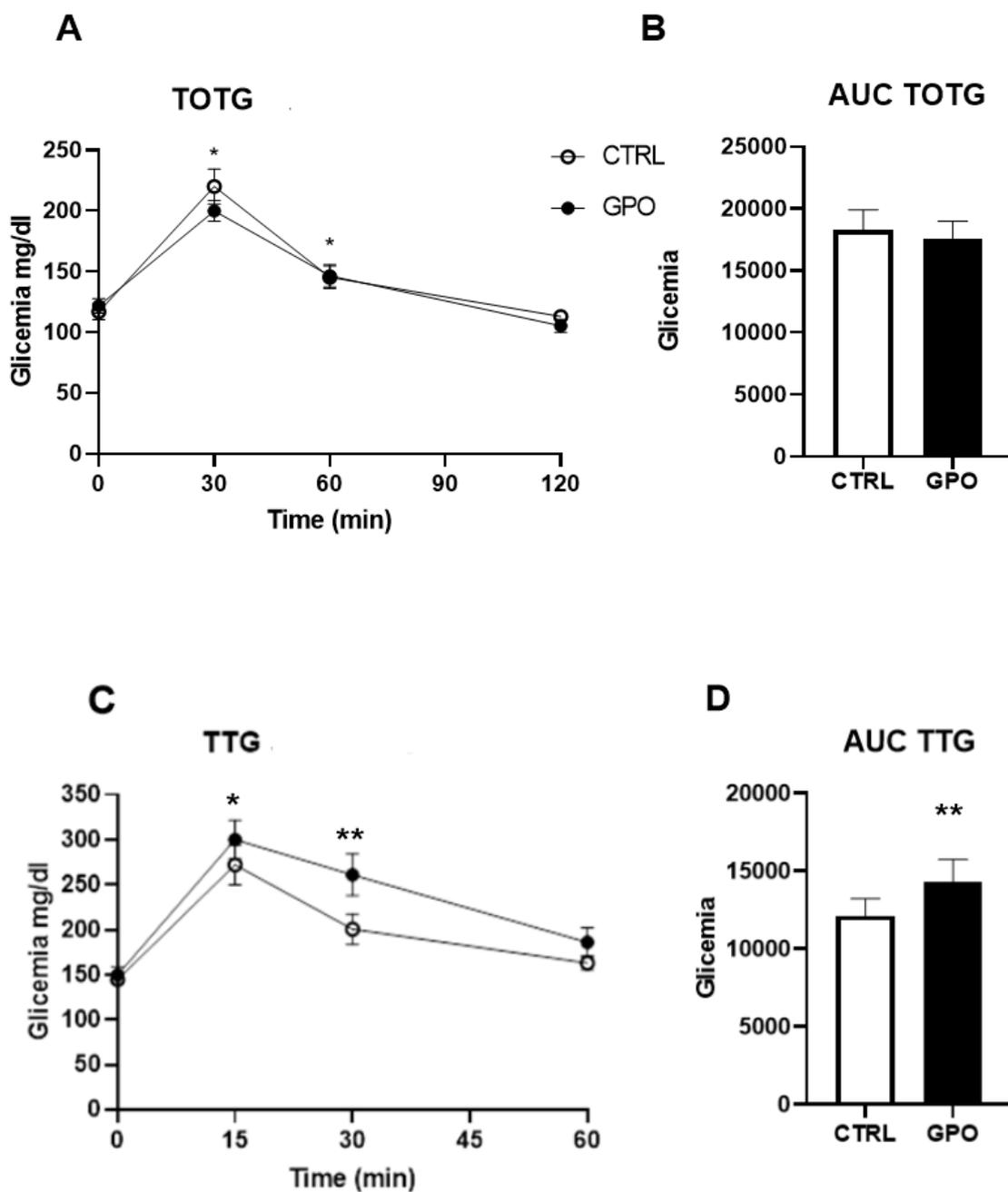
Dados expressos como média ± desvio padrão da média

\*diferença significativa em relação ao tempo zero.

### 5.2 Influência da exposição única de *P. ostreatus* sobre o TOTG e TTG.

Como era de se esperar, ao administrarmos glicose por via oral para realização do TOTG, observamos um aumento da concentração de glicose sanguínea após 30 minutos, com redução dessa para valores próximos aos basais após 60 minutos em ambos os grupos (Figura 4A). A exposição prévia com *P. ostreatus* não foi capaz de alterar a variação glicêmica ao longo do TOTG (Figura 4A).

Quando a variação glicêmica foi testada pela administração de glicose por via intraperitoneal (TTG), observamos um aumento significativo em ambos os grupos já aos 15 minutos do teste (Figura 4C). No entanto, o GPO apresentou menor decaimento da glicemia ao longo do tempo quando comparado ao grupo controle, sendo essa significativamente maior no GPO em relação ao CTRL aos 30 minutos (Figura 4C e 4D).



**Figura 4:** Concentração sanguínea de glicose após administração oral (TOTG) e intraperitoneal (TTG) de NaCl 0,9% ou extrato de *P. ostreatus* (2000 mg/kg). CTRL = grupo controle (n=12); GPO= grupo *P.ostreatus* (n=12).

\*diferença significativa de ambos os grupos em relação ao tempo zero (TOTG e TTG)

\*diferença significativa de ambos os grupos em relação ao tempo 30 min (TOTG);

\*\* diferença significativa em relação ao grupo controle.

### 5.3 Resultados da exposição *repetida* com *P. ostreatus* (2000mg/kg) por 21 dias

### 5.3.1 Peso corporal e consumo alimentar

As tabelas 2 e 3 apresentam o peso corporal e o consumo alimentar ao longo dos 21 dias da administração diária de extrato de *P. ostreatus*. Ambos os parâmetros foram semelhantes entre os grupos experimentais no início do estudo e não apresentaram variações significativas ao longo do tempo.

**Tabela 2:** Peso corporal dos respectivos grupos experimentais durante o tratamento com *P. ostreatus*.

	Peso corporal (g)	
	CTRL	GPO21
Semana 1	19,2 ± 3,0	20,3 ± 2,4
Semana 2	19,5 ± 2,9	20,2 ± 2,4
Semana 3	20,6 ± 3,3	20,7 ± 2,0

Dados expressos como média ± desvio padrão da média. CTRL= grupo controle; GPO=Grupo *P. ostreatus*.

**Tabela 3:** Consumo alimentar individual por semana dos respectivos grupos experimentais durante o tratamento.

	Peso corporal (g)	
	CTRL	GPO21
Semana 1	54,3 ± 4,1	56,5 ± 9,5
Semana 2	55,5 ± 3,9	57,3 ± 8,4
Semana 3	55,1 ± 9,9	58,0 ± 5,0

Dados expressos como média ± desvio padrão da média CTRL= grupo controle; GPO=Grupo *P. ostreatus*

### 5.3.2 Influência da administração única de *P. ostreatus* (2000mg/kg) na glicemia de animais suplementados com o mesmo extrato por 21 dias

A exposição repetida com *P. ostreatus* não influenciou na glicemia basal (tempo zero) dos animais. Ao administrarmos dose única de *P. ostreatus* por via oral a glicemia aumentou significativamente no grupo GPO 21 após 30 minutos em relação à glicemia inicial (P=0,013). Ao compararmos a glicemia entre os tempos 30 e 60 minutos observamos uma redução significativa no grupo GPO 21 (P=0,009).

Sendo assim, diferente do grupo controle, o qual não variou sua glicemia ao longo de todo o período.

**Tabela 4:** Glicemia (mg/dl) ao longo do tempo após administração de *P. ostreatus* (2000mg/kg) por via oral

Tempo/Grupos	CTRL	GPO 21	GPO 21 + FLORIZINA
Zero	127,0 ± 9,9	121,5 ± 11,1	116,2 ± 23,8
30'	142,5 ± 3,3	172,5 ± 22,7*	108,7 ± 9,8
60'	143,0 ± 34,4	164,0 ± 20,4**	107,2 ± 28,2

Dados expressos como média ± desvio padrão da média

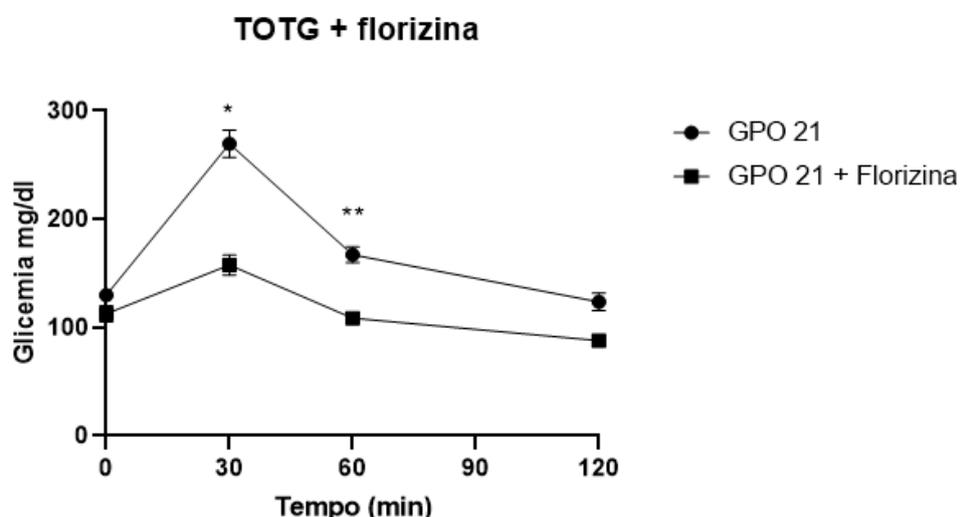
\*diferença significativa em relação ao tempo zero.

\*\*diferença significativa em relação ao tempo 30 min.

### 5.3.3 Participação do transportador SGLT1 na glicemia de animais expostos a dose única de *P. ostreatus* após 21 dias de suplementação com o mesmo extrato

O tratamento com inibidor do SGLT1 manteve a glicemia inalterada ao longo de 60 minutos após administração de *P. ostreatus* (2000 mg/kg), sendo essa significativamente menor aos 30 ( $p < 0,0001$ ) e 60 ( $p = 0,01$ ) minutos no grupo GPO 21 + Florizina em relação ao GPO 21 (Tabela 4).

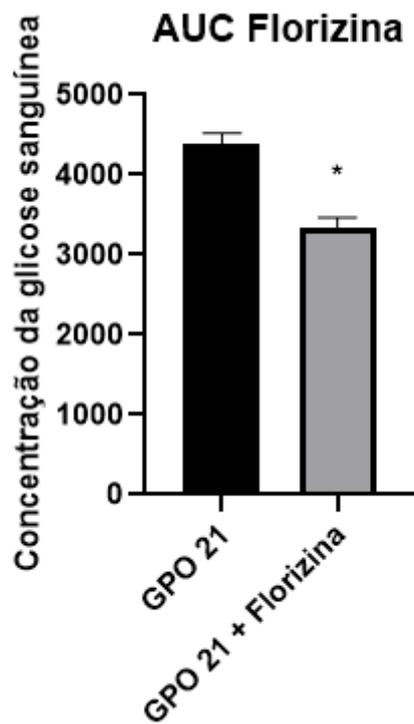
Ao realizarmos o TOTG com os animais suplementados por 21 dias, verificamos grande aumento da glicemia aos 30 minutos (Figura 5), que reduziu aos valores basais após 120 min. Já os animais tratados com Florizina não tiveram variação glicêmica ao longo do teste (Figura 5 e 6), sendo essa significativamente menor em relação ao grupo GPO21 nos tempos 30 e 60 minutos.



**Figura 5:** Concentração sanguínea de glicose após administração intragástrica de NaCl 0,9%, extrato de *P. ostreatus* (2000 mg/kg). GPO 21= grupo *P.ostreatus* após o tratamento(n=8); GPO 21 + Florizina (n=12).

\* diferença significativa do grupo GPO 21 vs GPO 21 + florizina no tempo 30' ( $p < 0,0001$ )

\*\*diferença significativa do grupo GPO 21 vs GPO 21 + florizina no tempo 60' ( $p = 0,0006$ )



**Figura 6:** Dados expressos em média  $\pm$  DPM. GPO 21 + Florizina (n=12); GPO 21= grupo *P.ostreatus* pós tratamento (n=8)

\* diferença significativa do grupo GPO 21 + Florizina vs. GPO 21 ( $p < 0,003$ )

## 6. Discussão

O principal achado do presente estudo foi mostrar de forma inédita que a suplementação por via intragástrica com extrato de cogumelo *P. ostreatus* (2000 mg/kg) aumentou a capacidade de absorção intestinal de glicose e que essa influência está fortemente atrelada aos transportadores SGLT1. Somado a isso, avaliamos a influência do tratamento com *P. ostreatus* em camundongos C57BL/6 saudáveis. Os achados sugerem que o tratamento com *P. ostreatus* por 21 dias influencia na glicemia dos animais saudáveis, e na sua absorção intestinal, podendo esse estar relacionado com a sensibilização do transportador SGLT1.

De forma a associar a absorção de glicose a transportadores intestinais, foram realizados TOTG e TTG. No entanto, não observamos diferenças significativas no TOTG. Ou seja, o resultado do teste com exposição única *P. ostreatus*, nos indicam que, da maneira como foi feita, não influenciou na capacidade de absorção intestinal de glicose. Contudo, no teste TTG o decaimento da glicemia foi menor no GPO quando comparado ao CTRL. Tendo em vista que a glicemia é regulada pela entrada e saída de sacarídeos no sangue, essa pode então estar relacionada à gliconeogênese, ou também à resistência insulínica. De acordo com estudo realizado por Lindequist & Haertel (2020), a propriedade hipoglicêmica pode estar associada pelo aumento da atividade da glicoquinase e pela secreção de insulina, aumentando a utilização de glicose pelos tecidos periféricos, inibindo a glicogênio sintase quinase, promovendo a síntese de glicogênio (Lindequist & Haertel, 2020).

Ainda assim, a respeito da Influência do *P. ostreatus* sobre a glicemia após exposição prévia com glicose, é notória a influência da presença de sacarídeos na composição do cogumelo, visto que no grupo GPO teve um maior pico glicêmico quando comparado ao CTRL, porém, menor decaimento da glicemia após administração do extrato. Reforçando nossos achados, de acordo com Koepsell, H., 2020, no intestino delgado, adaptações inespecíficas e específicas são desenvolvidas para cobrir diferentes demandas energéticas para absorção de monossacarídeos. As adaptações inespecíficas do intestino delgado são lentas e requerem no mínimo alguns dias, e já foram observados em resposta a mudanças na nutrição (Koepsell, H., 2020).

Além dos mecanismos expostos a respeito dos cogumelos, devemos destacar também sua importância na estimulação da secreção insulínica pelas células  $\beta$

pancreáticas e a translocação/expressão do transporte GLUT4 para membrana plasmática de várias células. A influência do *P. ostreatus* em doses de 100 a 400mg/kg foram administradas em ratos diabéticos e foi observada maior translocação do GLUT4 para membrana por aumento na fosforilação do glicogênio sintase quinase 3 (GSK-3), principalmente na dose de 400mg/kg (ZHANG et al., 2016). Ademais, em estudo prévio do nosso grupo verificamos que a dose de 500mg/Kg mostrou-se promissora em aumentar a sensibilidade à insulina em camundongos C56BL/6 machos tratados com extrato de *P. ostreatus* na dose de 500mg/Kg (Degrandis, 2021). No entanto, vale ressaltar que é de extrema importância a realização de testes com exposição única do *Pleurotus* para avaliar a função insulínica, tendo em vista, que os testes realizados em nosso laboratório foram feitos após tratamento com o extrato.

Em relação ao peso corporal, não foram observadas diferenças significativas entre o peso inicial e final ao longo dos 21 dias de experimento. Este achado está de acordo com resultados prévios do nosso grupo. Silveira (2022) em um estudo com extrato de *P. ostreatus* em diferentes doses (500 mg/kg, 1000mg/kg e 2000mg/kg), com camundongos fêmeas C57BL/6, não observou diferenças significativas entre o peso final e inicial durante 28 dias de experimento. Silva (2022) em um estudo com *P. albidus* na dose de 1000mg/kg, em camundongos C57BL/6, não apresentou oscilações significativas em relação ao peso corporal dos animais durante o experimento. Corroborando com nossos achados, Xiong et al (2017) em um estudo com ergosterol presente no *P. ostreatus* em camundongos que consumiam uma dieta hiperlipídica, também não constataram oscilações do peso corporal dos animais (Silveira, 2022); (Silva, 2022) ;(XIONG et al, 2018).

De acordo com a literatura, os cogumelos do gênero *Pleurotus* contêm grandes quantidades de carboidratos variando entre 24,95 e 75,88%. Os polissacarídeos e a quitina presentes nos cogumelos constituem a maior parte dos nutrientes. A maior quantidade de substâncias celuloides, incluindo fibras dietéticas ricas, leva os cogumelos a uma dieta de baixa caloria com maior valor terapêutico. Além disso, devido ao seu baixo valor calórico e baixo índice glicêmico, proteínas e fibras de alto valor, bem como a alta relação potássio:sódio, os cogumelos são adequados para a dieta de diabéticos e pacientes com hipertensão. Contudo, embora seja bem estabelecido que há sacarídeos em cogumelos, a quantidade é dependente do

cultivo e da extração (PASIZNICK APATI, 2004. De acordo com estudo feito por Shuai Zhou et al., 2016, que avaliou as mudanças de carboidratos durante o crescimento e frutificação em *Pleurotus ostreatus*, foi avaliado que os conteúdos da maioria dos carboidratos, incluindo trealose, manitol, polissacarídeo e quitina, foram maiores no estipe e na base durante a fase de corpo de frutificação jovem e maduro, sendo, portanto, regiões adequadas para extração de carboidratos (Shuai Zhou et al., 2016).

Visando determinar quanto o SGLT1 contribui na absorção dos sacarídeos presentes no extrato de cogumelo realizamos o teste com Florizina. Por observarmos que o efeito do *P. ostreatus* foi abolido, deduzimos que realmente sua influência em aumentar a glicemia aos 30 min é decorrente de sacarídeos em sua composição e que são absorvidos pelo SGLT1. Esses resultados corroboram com estudo feito por Martus G et al., 2022, o qual avaliou os efeitos da Florizina no transporte de glicose em diálise peritoneal. Foi demonstrado que após injeção intraperitoneal de 50mg/l de florizina em ratos Sprague-Dawley, houve redução da glicose plasmática e da capacidade mediana de difusão de glicose (Martus G et al., 2022). No entanto, a associação direta entre *Pleurotus ostreatus* e SGLT1 ainda é escassa na literatura.

Ao analisar a Influência da exposição repetida ao *P. ostreatus* e ao inibidor do SGLT1 sobre a glicemia de camundongos submetidos ao TOTG, observamos que a exposição repetida ao *P. ostreatus* tornou os animais mais sensíveis a uma carga de glicose maior, tendo em vista que a glicemia foi semelhante entre GPO e GPO 21 quando administrado *P. ostreatus*. Ainda, os animais que receberam Florizina e foram submetidos ao TOTG com carga de glicose de 2g/kg apresentaram significativa atenuação do pico glicêmico em relação aos demais grupos experimentais. Vale ressaltar, que a ação da Florizina sob o transportador SGLT1, ocorre de forma específica, porém, a mesma não inibe os GLUTs (EHRENKRANZ et al., 2005).

A partir disso, acreditamos que a exposição continuada ao extrato aumenta o número de transportadores na membrana apical dos enterócitos. Corroborando aos nossos achados, um estudo que avaliou a expressão e função do SGLT1 e dos GLUTs em células enteroendócrinas, indicam que SGLT1 e GLUT2 estão criticamente envolvidos na estimulação dependente de glicose da secreção de GLP-

1 e Hormônio insulíntrópico dependente de glicose (GIP) no intestino delgado em altas concentrações luminiais de D-glicose, visto que em um estudo experimental com a secreção precoce de GLP-1 após gavagem com D-glicose foi diminuída e a secreção de GIP foi abolida quando o SGLT1 foi removido. Além disso, perfundindo o intestino delgado de ratos in vivo, observou-se que a secreção de GIP e/ou GLP-1 foi estimulada quando a concentração luminal de D-glicose foi aumentada de 5 para 100 mM de D-glicose e que esse aumento foi atenuado em 45% quando SGLT1 foi inibido com florizina (Koepsell, H., 2020).

Portanto, é evidente que o *P. ostreatus* aumenta o transporte de glicose pelo SGLT1 quando a carga de glicose ofertada é de 2g/kg, tendo em vista a comparação entre os grupos GPO 21 e o grupo GPO 21 + Florizina.

## 7. Conclusão

Em conclusão, camundongos C57BL/6 submetidos a um tratamento de 21 dias com extrato de *P. ostreatus* na dose de 2000 mg/kg, apresentaram aumento no transporte de glicose pelo SGLT1. Vale ressaltar que, diferentemente dos demais estudos presentes na literatura, utilizou-se animais saudáveis para a experimentação, o que demonstra um fator interessante neste estudo.

Além disso, os resultados encontrados no presente trabalho, foram importantes para confirmarmos a influência do cogumelo na glicemia, como também, na absorção de glicose intestinal modulada pelo SGLT1, e o seu papel sobre os efeitos do *Pleurotus*. Análises adicionais são importantes para enriquecer o entendimento dos mecanismos envolvidos nos resultados obtidos no presente trabalho, sendo esse um estudo de base para futuras pesquisas translacionais, visando sua utilização na prevenção e/ou tratamento de doenças.

## 8. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, Aline Silva *et al.* Valores de referência de parâmetros bioquímicos no sangue de duas linhagens de camundongos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s. l.], v. 44, n. 6, p. 429–432, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1676-24442008000600006>

ARAÚJO, JOÃO & MARTEL, FÁTIMA. (2009). Regulação da Absorção Intestinal de Glicose: Uma Breve Revisão. *Arquivos de Medicina*. 23. 35-43.

BAEVA, Ekaterina *et al.* Polysaccharides from Basidiocarps of Cultivating Mushroom *Pleurotus ostreatus*: Isolation and Structural Characterization. **Molecules (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 24, n. 15, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules24152740>.

BÁRBARA GRAZIELA POSTAL CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO E DE VIAS DE SINALIZAÇÃO DE COMPOSTOS PRESENTES EM *ILEX PARAGUARIENSIS* ST. HIL. ENVOLVIDAS NA HOMEOSTASIA DA GLICOSE. [s. l.], 2015.

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**, [s. l.], v. 330, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127173>.

BARROS, C. C. *et al.* Efficient method for obtaining Lepob/Lepob-derived animal models using adipose tissue transplantations. **International Journal of Obesity** 2009 33:8, [s. l.], v. 33, n. 8, p. 938–944, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ijo.2009.95>.

BELLETTINI, Marcelo Barba *et al.* **Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp.** [S. l.]: Elsevier B.V., 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>

CARBOHYDRATES - BIOLOGY - OPENSTAX CNX. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: [https://cnx.org/contents/GFy\\_h8cu@9.85:c7OsVIEc@6/Carbohydrates](https://cnx.org/contents/GFy_h8cu@9.85:c7OsVIEc@6/Carbohydrates).

CASTRO, Ana Valeria B. *et al.* Obesity, insulin resistance and comorbidities – Mechanisms of association. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s. l.], v. 58, n. 6, p. 600–609, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0004-2730000003223>.

CHANG, Shu Ting; WASSER, Solomon P. Current and Future Research Trends in Agricultural and Biomedical Applications of Medicinal Mushrooms and Mushroom Products (Review). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 1121–1133, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1615/INTJMEDMUSHROOMS.2018029378>.

ĆILERDŽIĆ, Jasmina *et al.* *Pleurotus ostreatus* and *Laetiporus sulphureus* (Agaricomycetes): Possible Agents against Alzheimer and Parkinson Diseases. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 275–289, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1615/INTJMEDMUSHROOMS.2019030136>.

DA COSTA, Paola Quevedo *et al.* Beneficial effects of *Pleurotus albidus* supplementation on body weight and food intake in healthy C57BL/6 mice. **Journal of Future Foods**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 98–103, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JFUTFO.2021.08.002>

DEGRANDIS, Fabrício. Ação do cogumelo *Pleurotus ostreatus* sobre a regulação glicêmica em camundongos C57BL/6 saudáveis. Dissertação de mestrado PPGNA (Programa de pós graduação em nutrição e alimentos) - Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

DE SOUZA CARDOSO, Juliane *et al.* Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance. <https://doi.org/10.1080/13510002.2017.1375709>, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 41–46, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13510002.2017.1375709>.

DICKS, Lisa; ELLINGER, Sabine. Effect of the Intake of Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) on Cardiometabolic Parameters-A Systematic Review of

Clinical Trials. **Nutrients**, [s. l.], v. 12, n. 4, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/NU12041134>.

DROZDOWSKI, L., & THOMSON, ABR (2006, 21 de março). Transporte intestinal de açúcar. *Revista Mundial de Gastroenterologia*. Baishideng Publishing Group Co. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i11.1657>

EHRENKRANZ, Joel R.L. *et al.* Phlorizin: a review. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 31–38, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/DMRR.532>. Acesso em: 6 maio 2022.

FREITAS, Helayne Soares *et al.* Insulin but Not Phlorizin Treatment Induces a Transient Increase in GLUT2 Gene Expression in the Kidney of Diabetic Rats. **Nephron Physiology**, [s. l.], v. 105, n. 3, p. p42–p51, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000098442>.

HABER EP, CURI R, CARVALHO CRO, CARPINELLI AR. Secreção da insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2001;45:219–27. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302001000300003>.

JAYASURIYA, W. J.A.B.N. *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**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 347–355, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1615/INTJMEDMUSHR.V14.I4.20>.

KANAGASABAPATHY G, Kuppusamy UR, Abd Malek SN, Abdulla MA, Chua K-H, Sabaratnam V. Glucan-rich polysaccharides from *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer prevents glucose intolerance, insulin resistance and inflammation in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *BMC Complement Altern Med* 2012;12:261. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-261>.

KLEIN D, Kern RM, Sokol RZ. A method for quantification and correction of proteins after transfer to immobilization membranes. *Biochem Mol Biol* 1995;36:59-66.

KOEPSELL, H. Transportadores de glicose no intestino delgado na saúde e na doença. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 472 , 1207–1248 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02439-5>

LAEMMLI V. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970;227:680–685.

LIBERATO, M. C. T. C; OLIVEIRA, M. S. C. Bioquímica- NL 2019, cap. 2, carboidratos.

LINDEQUIST, Ulrike & HAERTEL, Beate. Medicinal Mushrooms for Treatment of Type 2 Diabetes: An Update on Clinical Trials. *International journal of medicinal mushrooms*, v.22(9), p.845–854, 2020

MACHADO, Ubiratan Fabres. Transportadores de glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s. l.], v. 42, n. 6, p. 413–421, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0004-27301998000600003>.

MARTUS G, Bergling K, Öberg CM. Dual SGLT1/SGLT2 inhibitor phlorizin reduces glucose transport in experimental peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2023 Mar;43(2):145-150. doi: 10.1177/08968608221080170. Epub 2022 Feb 20. PMID: 35188009.

MÜLLER, Ulrike *et al.* In Vitro and In Vivo Inhibition of Intestinal Glucose Transport by Guava (*Psidium Guajava*) Extracts. **Molecular Nutrition & Food Research**, [s. l.], v. 62, n. 11, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/MNFR.201701012>.

PAIVA, C. **Dra. Márcia Cristina Paiva O papel fisiológico da insulina e dos hormônios contrarregulatórios na homeostase glicêmica** **Physiological role of insulin and counterregulatory hormones on glycemic homeostasis. Resumo.** 2014. Disponível em: <https://www.vponline.com.br/portal/noticia/pdf/625a3c9793434f4226ef9eb5508f2c51.pdf>.

PASIZNICK APATI, Giannini. SECAGEM E RESFRIAMENTO A VÁCUO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS DA ESPÉCIE *Pleurotus ostreatus* DSM 1833. [s. l.], 2004.

PINHEIRO, Denise Maria; REJANE, Karla; PORTO, Andrade. Conversando sobre Ciências em Alagoas A Química dos Alimentos: carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais. [s. l.], 2005 Disponível em: [www.edufal.ufal.br](http://www.edufal.ufal.br)..

RHODES, Ryon Sun S. *et al.* Regulation of Glucose Insulinotropic Peptide and Intestinal Glucose Transporters in the Diet-Induced Obese Mouse. **Journal of Diabetes Research**, [s. l.], v. 2022, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/5636499>

RIEG, Timo; VALLON, Volker. Development of SGLT1 and SGLT2 inhibitors. **Diabetologia**, [s. l.], v. 61, n. 10, p. 2079, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S00125-018-4654-7>.

S. ZHOU , F. Ma , X. Zhang , J. Zhang Mudanças de carboidratos durante o crescimento e frutificação em *Pleurotus ostreatus*. *Fungal Biol.* , 120 ( 6–7 ) ( 2016 ) , pp . 852-861 ,[10.1016/j.funbio.2016.03.007](https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.03.007).

SANIOTO, Sônia Malheiros Lopes. Digestão e Absorção de Nutrientes Orgânicos. **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**, [s. l.], p. 603–644, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5151/9788580391893-22>

SILVA, Karen Martirena Monks. Efeito da suplementação com extrato de *Pleurotus albidus* na resistência insulínica. Dissertação de mestrado PPGNA (Programa de pós graduação em nutrição e alimentos) - Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

SILVEIRA, Taís. Efeito do extrato de *Pleurotus ostreatus* sobre a glicemia de camundongos fêmeas. Dissertação de mestrado PPGNA (Programa de pós graduação em nutrição e alimentos) - Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

STEARNS, Adam T. *et al.* Rapid upregulation of sodium-glucose transporter *sglt1* in response to intestinal sweet taste stimulation. **Annals of Surgery**, [s. l.], v. 251, n. 5, p. 865–871, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181d96e1f>.

TAVARES, Anderson Martins; FLUMINENSE, Universidade Federal. Avaliação do estresse oxidativo e marcadores inflamatórios em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2. [s. l.], 2017. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/5426>.

VENTURELLA, G., FERRARO, V., CIRLINCIONE, F., & GARGANO, ML (2021, 2 de janeiro). Cogumelos medicinais: compostos bioativos, uso e ensaios clínicos. *Revista Internacional de Ciências Moleculares*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22020634>

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** 2020 104:11, [s. l.], v. 104, n. 11, p. 4675–4703, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S00253-020-10476-4>.

XIONG, Mingrui *et al.* Antidiabetic Activity of Ergosterol from *Pleurotus Ostreatus* in KK-A<sup>y</sup> Mice with Spontaneous Type 2 Diabetes Mellitus. **Molecular Nutrition & Food Research**, [s. l.], v. 62, n. 3, p. 1700444, 2018a. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700444>.

ZANELLA, Renata. UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos Dissertação Influência do Receptor B1 de Cininas na Fisiopatologia da Obesidade e do Diabetes Mellitus em Camundongos ob/ob. [s. l.], 2016.

ZHANG, Yan *et al.* Antidiabetic effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* in streptozotocin-induced diabetic rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 83, p. 126–132, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.045>