

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS



Dissertação

Efeito do extrato de *Pleurotus ostreatus* sobre a glicemia de camundongos fêmeas

Taís Köpp da Silveira

Pelotas, 2022

Taís Köpp da Silveira

Efeito do extrato de *Pleurotus ostreatus* sobre a glicemia de camundongos fêmeas

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: Paulo Cavalheiro Schenkel
Co-orientadora: Simone Pieniz

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S587e Silveira, Taís Köpp da

Efeito do extrato de *Pleurotus ostreatus* sobre a glicemia de camundongos fêmeas / Taís Köpp da Silveira ; Paulo Cavalheiro Schenkel, orientador ; Simone Pieniz, coorientadora. — Pelotas, 2022.

49 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Resistência insulínica. 2. Toxicidade subcrônica. 3. Glicemia. 4. Cogumelos. 5. Toxicidade aguda. I. Schenkel, Paulo Cavalheiro, orient. II. Pieniz, Simone, coorient. III. Título.

CDD : 641.1

Taís Köpp da Silveira

Efeito do extrato de *Pleurotus ostreatus* sobre a glicemia de camundongos fêmeas

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: 25 de fevereiro de 2022

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Cavalheiro Schenkel (Orientador)
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

Profa. Dra. Bruna Ferrary Deniz
Doutora em Ciências Biológicas (Neurociências) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

RESUMO

SILVEIRA, Taís Köpp da. **Efeito do extrato de *Pleurotus ostreatus* sobre a glicemia de camundongos fêmeas**. 2022. 49f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Estudos que utilizam produtos naturais como adjuvante no tratamento e/ou prevenção de doenças crônicas não transmissíveis vêm aumentando. Os cogumelos apresentam diversas propriedades farmacológicas, como a propriedade hipoglicemiante, capaz de aumentar a sensibilidade à insulina. A insulina é um hormônio anabólico responsável por diminuir níveis de glicose sanguíneas, internalizando a glicose nas células. Quando há resposta prejudicada desta ação, ocorre a resistência à insulina. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação do extrato de *Pleurotus ostreatus* sobre a glicemia de camundongos fêmeas saudáveis. Como ponto de partida foi analisada a toxicidade aguda do extrato de *P. ostreatus* em 5 ratas wistar. Após verificar que não houveram sinais de toxicidade aguda foi realizado o experimento 2. Para isso, foram utilizados 32 camundongos fêmeas C57BL/6 com aproximadamente 60 dias. Estas foram divididas em quatro grupos: Controle; *P. ostreatus* 500mg/Kg; *P. ostreatus* 1000mg/Kg *P. ostreatus* 2000mg/Kg, tratados diariamente por 28 dias. As doses de 500 e 2000mg/Kg mostraram-se mais eficazes no aumento da sensibilidade à insulina. Nenhum sinal de toxicidade subcrônica foi apresentado. Portanto, o cogumelo do gênero *Pleurotus ostreatus* mostra-se promissor na melhora da resistência insulínica, apresentando grande potencial como adjuvante na prevenção/tratamento de doenças crônicas como diabetes mellitus tipo 2.

Palavras-chave: Resistência insulínica. Toxicidade subcrônica. Glicemia. Cogumelos. Toxicidade aguda.

ABSTRACT

SILVEIRA, Taís Köpp da. **Effect of *Pleurotus ostreatus* extract on glycemia of female mice**. 2022. 49p. Dissertation (Masters in Nutrition and Food) – Postgraduate Program in Nutrition and Food, Faculty of Nutrition, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

Studies that use natural compounds as an adjuvant in the treatment and/or prevention of non-communicable chronic diseases have been increasing. Mushrooms have several pharmacological properties, such as the hypoglycemic property, capable of increasing insulin sensitivity. Insulin is an anabolic hormone responsible for lowering blood glucose levels by internalizing glucose into cells. When there is an impaired response to this action, insulin resistance occurs. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the action of *Pleurotus ostreatus* extract on the blood glucose of healthy female mice. As a starting point, the acute toxicity of the *P. ostreatus* extract in 5 Wistar rats was analyzed. After verifying that there were no signs of acute toxicity, experiment 2 was carried out. For this, 32 female C57BL/6 mice with approximately 60 days were used. These were divided into four groups: Control; *P. ostreatus* 500mg/Kg; *P. ostreatus* 1000mg/Kg *P. ostreatus* 2000mg/Kg, treated daily for 28 days. Doses of 500 and 2000mg/Kg were more effective in increasing insulin sensitivity. No signs of subchronic toxicity were presented. Therefore, the mushroom of the genus *Pleurotus ostreatus* shows promise in improving insulin resistance, showing great potential as an adjuvant in the prevention/treatment of chronic diseases such as type 2 diabetes mellitus.

Keywords: Insulin resistance. Subchronic toxicity. Blood glucose. Mushrooms. Acute toxicity.

Lista de Figuras

Figura 1	Imagem do cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i>	12
Figura 2	Desenho experimental da toxicidade aguda.....	25
Figura 3	Ilustração dos grupos de tratamento.....	26
Figura 4	Desenho experimental do experimento 2	27
Figura 5	Demonstração da aplicação de insulina via intraperitoneal em camundongo.....	27
Figura 6	Ilustração do TTI.....	28
Figura 7	Variação do peso corporal.....	31
Figura 8	Peso corporal ao longo de quatro semanas de tratamento	31
Figura 9	Análise do consumo alimentar ao longo de quatro semanas experimentais.....	32
Figura 10	Análise da ingestão de água ao longo de quatro semanas experimentais.....	33
Figura 11	Teste de tolerância à insulina (TTI) ao final do período experimental.....	34
Figura 12	Constante do decaimento da glicemia (KITT).....	34

Lista de abreviaturas e siglas

ALT	Alanina amino transferase
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
CCl ₄	Tetracloroeto de carbono
DCNT	Doenças crônicas não-transmissíveis
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
GLUT4	Transportador de glicose tipo 4
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
KITT	Taxa de decaimento da glicemia
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NaCl	Cloreto de sódio
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
<i>P. ostreatus</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>
PPAR γ	Proliferadores de peroxissoma tipo gama
RI	Resistência insulínica
SM	Síndrome metabólica
TTI	Teste de tolerância à insulina

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 COMPOSTOS BIOATIVOS DE COGUMELOS	14
2.2 RESISTÊNCIA À INSULINA.....	19
3 OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO.....	23
4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO E TRATAMENTO COM <i>P. OSTREATUS</i>	23
4.3 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	24
4.4 ANIMAIS	24
4.5 ANÁLISE DA TOXICIDADE AGUDA	24
4.6 ANÁLISE DA TOXICIDADE SUBCRÔNICA E SOBRE O METABOLISMO DA GLICOSE..	26
4.7 PESO CORPORAL, CONSUMO ALIMENTAR E HÍDRICO.....	27
4.8 TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA (TTI)	27
4.9 TAXA DE DECAIMENTO DA GLICEMIA (KITT)	28
4.10 DESCARTE DE MATERIAIS BIOLÓGICOS E QUÍMICOS.....	28
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
5 RESULTADOS	30
5.1 TOXICIDADE.....	30
5.2 PESO CORPORAL.....	30
5.3 CONSUMO ALIMENTAR E HÍDRICO.....	32
5.4 GLICEMIA, TTI E KITT	34
6 DISCUSSÃO.....	36
7 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....	39
8 REFERÊNCIAS	40
ANEXOS.....	47

1 Introdução

O número de pessoas que sofrem de síndrome metabólica (SM) vem crescendo anualmente. Estima-se que aproximadamente um quarto da população adulta mundial tenha algum tipo de doença crônica não transmissível (DCNT) relacionada a esta síndrome, o que torna um grande problema de saúde pública no mundo (KHATUN et al, 2020). A SM está associada a diversas doenças como obesidade, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão, dislipidemia, doenças cardiovasculares, entre outras. Um dos fatores responsáveis pelo desenvolvimento dessas doenças é a resistência à insulina (RI), a qual é definida como uma resposta prejudicada à estimulação do hormônio insulina a tecidos-alvo, como fígado, músculo e tecido adiposo, sendo relacionada principalmente ao excesso de gordura corporal, envelhecimento e causas genéticas (ZHANG et al., 2021; CORTÉS-ROJO et al., 2020). Sabe-se que a insulina é um hormônio anabólico que estimula a internalização da glicose nas células por meio da translocação dos seus receptores na membrana plasmática no metabolismo glicídico (GUTIERREZ-RODELO et al., 2017).

Nos últimos anos, as escolhas alimentares e atenção nas funções fisiológicas dos alimentos ganharam atenção dos consumidores e da indústria alimentícia (ARIHARA, 2006). Dietas ricas em frutas e vegetais, como a dieta mediterrânea e a da população asiática, mostram eficácia na redução dos riscos as DCNT, levando ao aumento da qualidade de vida (BASTOS et al, 2009). Os compostos bioativos de alimentos não são considerados nutrientes, mas podem conter propriedades farmacológicas e nutracêuticas. Uma ação comum desses compostos é a capacidade de inibir o estresse oxidativo por sua propriedade antioxidante. Ou seja, são capazes de estabilizar os radicais livres, responsáveis pelo dano oxidativo aos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (BASTOS et al, 2009).

Alimentos que possuem essas propriedades e merecem destaque são os cogumelos. Estes são pertencentes ao reino fungi e podem ser divididos em duas classes: *ascomyces* e *basidiomycetes*. Eles podem ser comestíveis ou terem efeitos tóxicos e alucinógenos e apresentam diversas formas, cores e texturas (PAZZA et al, 2019).

O consumo de cogumelos é uma tradição em diversos países asiáticos e do sul centro-leste da Europa, utilizado tanto na gastronomia como na medicina tradicional (SILVA; JORGE, 2011; FOGARASI et al, 2018). Na gastronomia eles são considerados iguarias pela sua textura, sabor e por possuírem ótimo aporte nutricional, contendo alto teor de proteínas, aminoácidos essenciais, fibras e baixo teor de gordura, podendo ser considerados um alimento funcional (ELLAN et al, 2019). Entre os vários cogumelos comestíveis, destacam-se o *Agaricus bisporus* (champignon), seguido do *Lentinus edodes* (shiitake), *Pleurotus spp* (cogumelo ostra), *Auricularia auricula* (cogumelo orelha de pau) e o *Volvariella volvacea* (cogumelo palha) (CHIAVEGATTI et al, 2018).

O gênero *Pleurotus spp*, conhecido como cogumelo ostra, são fungos saprofitos, pertencente à família *Pleurotaceae*, ocupando a terceira posição em produção de cogumelos comestíveis no mundo (CONFORTIN et al 2008; SARTORI et al, 2014). São encontrados em materiais lignocelulósicos, e com base no seu peso seco, eles possuem uma boa fonte de proteínas digestíveis (10-40%), carboidratos (3-21%), fibra alimentar (3-35%), lipídios (3-4%), predominantemente ácido linoléico (70-78%), além de poucas calorias e alto teor de água (85-90%) (GOGAVEKAR et al, 2012; SARTORI et al, 2014). Dentre os micronutrientes podemos citar ferro, cobre, zinco e manganês, vitaminas do complexo B e C (SARTORI et al, 2014). Também são considerados uma boa fonte de antioxidantes fenólicos, como o ácido variegático e a diboviquinona (KALAC et al, 2009).

Pleurotus ostreatus (*P. ostreatus*), conhecido popularmente como ostra americana, é um cogumelo comestível muito popular mundialmente. Estudos vêm demonstrando que este cogumelo, por possuir propriedades farmacológicas, têm potencial para auxiliar o tratamento de diversas DCNTs (BARBOSA et al., 2020; DICKS & ELLINGER, 2020; CILERDZIC et al., 2019; RAHIMAH et al., 2019; ZHU et al., 2019; SONG et al., 2018; SYNYTSYA et al., 2009).



Figura 1 – Imagem do cogumelo *Pleurotus ostreatus*

Fonte: disponível na web em:

<https://www.mondofunghi.com/en/pleurotus-ostreatus-oyster-mushroom.html>

Baeva et al. (2020) demonstraram efeitos hipocolesterolêmicos e antinociceptivos em animais e pacientes que consumiram basidiocarpos de *P. ostreatus*, destacando o papel do polissacarídeo β -d-glucano como imunomodulador, antitumoral, antioxidante e outros efeitos prebióticos. Dkhil et al., 2020, através de análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), relataram a existência de cinco compostos fenólicos presentes no *P. ostreatus*, são eles: ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, propilgalato e ácido cinâmico.

Em uma revisão sobre a ação do *P. ostreatus* em aspectos cardiometabólicos, foram analisados oito estudos, os quais verificaram marcadores relacionados ao metabolismo glicêmico, lipídico, cardiovascular, peso corporal e apetite em humanos (DICKS e ELINGER, 2020). Em relação aos aspectos glicêmicos, Choudhury et al (2013) constataram uma redução de 13% na hemoglobina glicada em homens diabéticos tratados com 3g de *P. ostreatus* por três meses.

Pensando no aspecto dietético ou até de suplementação, o *P. ostreatus* mostra-se promissor no controle glicêmico. Em um estudo com objetivo de avaliar a influência *in vivo* e *in vitro* do *P. ostreatus*, foi observado que este é capaz de estimular a expressão e a translocação de transportador de glicose tipo 4 (GLUT-4) (XIONG et al, 2018). Zhang et al (2016) utilizando doses de 100, 200 e 400mg/Kg de *P. ostreatus* em animais diabéticos, também observaram redução da glicemia associada à translocação de GLUT-4 para membrana. Em humanos,

foi verificado que uma dose de 50mg/Kg foi suficiente para apresentar melhora na sensibilidade à insulina (RAVI et al, 2013).

Fármacos para melhorar a sensibilidade à insulina, como as tiazolidinedionas, utilizados no tratamento do diabetes, envolve efeitos adversos como hepatotoxicidade e risco cardiovascular. Para minimizar tais efeitos, muito se estuda sobre recursos naturais, como os cogumelos. Aliá-los ao tratamento de DCNT, pode aumentar a adesão dos pacientes, visando uma melhora na qualidade de vida, podendo ser utilizados como fator protetor ao não desenvolvimento de resistência à insulina. Ainda há muito o que ser explorado neste aspecto. Mesmo com o crescente número de estudos com cogumelos, ainda são necessárias mais pesquisas, principalmente no que tange ao uso de uma dose segura.

Baseado nisto, o presente estudo tem como objetivo principal avaliar a intervenção do extrato de *Pleurotus ostreatus* sobre a glicemia e a sensibilidade à insulina em camundongos fêmeas saudáveis.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Compostos bioativos de cogumelos

Uma alimentação equilibrada e saudável traz inúmeros benefícios à saúde, agindo como um protetor de diversas doenças. Dentre outras, as dietas do mediterrâneo e de países asiáticos ganham destaque através dos inúmeros benefícios à população, impulsionando pesquisas nesta área (BASTOS et al., 2009). Sabe-se que a base dessas dietas são frutas e vegetais, oleaginosas, carnes brancas, principalmente peixes, e azeite de oliva, os quais são fonte de energia, proteínas, minerais, fibras e vitaminas. Compostos bioativos desses alimentos possuem propriedades farmacológicas e nutracêuticas capazes de inibir o estresse oxidativo através de sua propriedade antioxidante, porém não são considerados nutrientes por não estarem associados ao crescimento e as funções vitais (BASTOS et al., 2009).

Os antioxidantes previnem o envelhecimento precoce e as doenças como aterosclerose, diabetes, câncer e cirrose (KHAN et al., 2016). Uma ingestão insuficiente destes compostos está atrelada ao desenvolvimento de DCNT e a uma menor longevidade (CARRASCO-GONZALEZ et al., 2017). Contudo, a sua ingestão de forma isolada não é eficaz na diminuição dos riscos de contrair estas doenças. Dentre os compostos bioativos dos alimentos destacam-se o resveratrol, curcumina, catequinas, quercetina, tirosol, licopeno, gingerol, campferol, entre outros. Já em relação aos compostos bioativos fúngicos podemos destacar os polissacarídeos (β -glucanos), peptídeos, proteínas, lectinas compostos fenólicos, policetídeos, terpenóides e enzimas (PATEL e GOYAL, 2012).

O reino fungi abrange uma enorme diversidade de espécies, estimando-se que existam de 500 mil a 5 milhões de fungos diferentes. Dentre eles, destacam-se os cogumelos. Esses são considerados iguarias, não só pelo seu sabor e textura, mas como tradição milenar, principalmente em países asiáticos onde utilizam para fins medicinais (FOGARASI et al., 2018). Aproximadamente 12.000 espécies de cogumelos são existentes em todo o mundo, sendo 2.000 consideradas comestíveis (35 cultivadas comercialmente) e 200 utilizadas para fins medicinais (RATHORE et al., 2017). A China é considerado o país com maior produção de cogumelos no mundo, sendo a Ásia responsável por dois terços de

toda produção mundial. A demanda por cogumelos vem crescendo mundialmente, cerca de 15% ao ano, devido ao aumento do consumo e da população (AIDA et al., 2009).

Os cogumelos possuem alto valor nutricional e aporte proteico, baixo teor de lipídios e calorias, rico em fibras dietéticas, antioxidantes, vitaminas e minerais. Somado a isso, possuem propriedades farmacológicas, incluindo propriedades antimicrobianas, antivirais, antitumorais, antiinflamatórias, imunomoduladoras, hipoglicêmicas e hepatoprotetoras, podendo ser considerados um alimento funcional (ELLAN et al, 2019). Além disso, como citado previamente, a presença de β -glucanos, peptídeos e proteínas bioativas nos cogumelos reforçam seu potencial de prebiótico sobre a imunomodulação e ação antitumoral (MUSZYNSKA et al., 2018).

O gênero *Pleurotus*, pertencente à família *Pleurotaceae*, são fungos saprofitos que possuem um basidiocarpo em forma de concha ou ostra com cores branco, creme, amarelo, marrom, rosa ou cinza, variando de acordo com a espécie e condições de cultivo, conhecidos popularmente por cogumelos ostra (CHANG & MILES, 2004). Constitui o terceiro gênero mais produzido de cogumelos comestíveis no mundo, tendo cerca de 94 espécies (SARTORI et al., 2011).

Quanto à composição de estruturas químicas ressalta-se os polissacarídeos, glicoproteínas e metabólitos como alcalóides e betalaínas, sendo responsáveis por respostas fisiológicas significativas em modelos animais e humanos (SHARMA et al., 2021). Além de ganhar destaque por seu sabor característico, evidencia-se também as propriedades nutricionais benéficas na saúde humana, pois é rico em proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas (tiamina, riboflavina, ácido fenólico e niacina), minerais e baixo teor de lipídios, calorias e sódio. A composição nutricional varia de acordo com a estrutura genética das espécies, o meio de cultivo, a composição do substrato e a época de colheita (KHAN e TANIA, 2012).

A composição de carboidratos do cogumelo ostra se dá pela presença de oligossacarídeos e polissacarídeos como quitina, α e β -glucanos, mananos, xilanos e galactanos (ADEBAYO & OLOKE, 2017). Polissacarídeos são polímeros macromoleculares naturais compostos por uma cadeia linear ou ramificada de ligação glicosídica de mais de 10 monossacarídeos que atuam

como ativadores do sistema de defesa contra infecções e mutações em organismos vivos, além de atuarem como antioxidantes, antitumorais e imunostimulatórios (XIE et al, 2016). O principal composto atribuído a melhoras cardiometabólicas são os β -glucanos, uma fibra alimentar associada a prevenção da resistência à insulina, dislipidemia, hipertensão e obesidade.

A estrutura molecular dos β -glucanos de cogumelos diferencia-se daqueles encontrados em cereais como aveia e cevada, pois consistem em monômeros de D-glicose ligados por ligações glicosídicas do tipo β em posições 1,3 e 1,6; já os cereais apresentam ligações nas posições 1,3 e 1,4 e não na posição 1,6 (CERLETTI et al, 2021). Esse tipo de ligação presente nos cogumelos está atrelado ao aumento na viscosidade do quimo, acelerando o trânsito intestinal, volume e frequência fecal, podendo ser benéficos em algumas síndromes intestinais (DICKS e ELINGER, 2020; CERLETTI et al, 2021). Raman et al. (2021) mostraram que níveis mais elevados de β -glucanos, mevinolina e ácido nicotínico, estiveram relacionados a redução dos níveis de colesterol sanguíneo em pacientes cardiopatas. Ademais, os β -glucanos têm merecido destaque por protegerem contra doenças diverticulares, síndrome do intestino irritável e câncer de cólon. Neste contexto, por serem ricos em β -glucanos, os cogumelos podem atuar como prebióticos, sendo as espécies *P. citrinopileatus* e *P. ostreatus* as que possuem maior quantidade de fibra bruta e β -glucanos (20,7% e 50%, respectivamente) (CARRASCO-GONZALEZ, 2017). Somado a isso, tem sido mostrado que os cogumelos in natura ou seus polissacarídeos isoladamente também 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).

Em relação às proteínas presentes no gênero *Pleurotus*, estudos compararam a quantidade com outros alimentos fontes de proteínas vegetais, sendo o maior teor encontrado no *P. sapidus* (38,5%) comparado com valores encontrados na soja (35-40%). Outras espécies de *Pleurotus* foram comparadas a proteína da ervilha ou grão-de-bico (20-30%) como *P. pulmonarius* (22,9%), *P. ostreatus* (23%) e *P. sajor-caju* (26%). Em questão de qualidade nutricional, o *P. ostreatus* destaca-se por conter todos os aminoácidos essenciais (GONZÁLEZ et al, 2021). Com relação aos micronutrientes, os mais abundantes no gênero

Pleurotus são: potássio, fósforo, magnésio, sódio, cálcio, ferro, zinco, manganês e cobre (GONZÁLEZ et al, 2021).

A adição de pó de corpos de frutificação de *Pleurotus* na formulação de alimentos tem sido usada em modelos animais para demonstrar seu potencial em reduzir glicemia, hemoglobina glicosilada, colesterol total e conteúdo de triglicerídeos em camundongos obesos com deficiência de receptor de leptina e aumento nos níveis séricos de lipoproteína de alta densidade (HDL) (KIM et al., 2010). Também foi mostrada a influência do *Pleurotus* em reduzir os níveis séricos de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipídeos em ratos alimentados com dietas hiperlipídicas (KIM et al, 2010; MIRCEA et al, 2015; ALAM et al, 2011). Em um estudo com humanos, que ingeriram sopa de tomate acrescida de 30g de *P. ostreatus* seco por três semanas, os níveis de triglicerídeos e colesterol LDL reduziram significativamente comparado àqueles indivíduos que consumiam apenas a sopa de tomate (SCHNEIDER et al., 2011). Ademais, o extrato de *P. ostreatus* em combinação com crisina, um flavonoide, mostrou-se eficaz em reduzir os níveis séricos de glicose, lipídios, marcadores hepáticos e aumentar os antioxidantes de ratos hipercolesterolêmicos (ANANDHI, et al 2013).

A atividade antioxidante de cogumelos comestíveis tem sido associada ao teor de polissacarídeos. Uma fração de polissacarídeo de *P. tuberregium* foi capaz de reduzir a hemólise do sangue e inibir o inchaço da mitocôndria e a peroxidação lipídica em fígados de camundongos (LIN et al.,2014). Em um estudo realizado por Chen et al. (2016) foram utilizados polissacarídeos de *P. eryngii* administrados por via oral a camundongos com lesão hepática induzida por tetracloreto de carbono (CCl₄) e observaram uma diminuição da enzima alanina aminotransferase (ALT), um marcador de lesão hepática. Semelhante a resultados obtidos com o extrato etanólico liofilizado de *P. ostreatus*, o qual foi administrado via intraperitoneal a ratos com hepatotoxicidade induzida por CCl₄, reduzindo a peroxidação lipídica e aumentando a ação antioxidante enzimática e não enzimática em rins, coração e cérebro (JAYAKUMAR, 2006).

Recentemente, o uso de cogumelos como suplementos dietéticos vem sendo amplamente utilizados de forma complementar na medicina integrativa e alternativa, especialmente na oncologia. São comumente utilizados nos países asiáticos, onde a micoterapia tem origens antigas e enraizadas, diferindo dos

países ocidentais, onde a aplicação de cogumelos em terapias ainda é bastante limitada. Outro ponto a ser considerado é que existem diversos suplementos à base de cogumelos no mercado com diferentes composições, doses e fabricação. Não há padronização nas composições, tampouco informações de efeitos adversos e interações, acarretando dificuldades na prática científica dos ensaios clínicos. Além disso, por apresentarem diversos compostos bioativos, torna-se difícil vincular o efeito ao seu verdadeiro agente no mesmo suplemento, tornando-se complexo uma dose adequada da preparação para garantir o efeito desejado, podendo as substâncias agirem de formas sinérgicas ou antagônicas (SHARMA et al, 2021).

Segundo o Guideline 423/2001 da Organização de Cooperação e de Desenvolvimento Econômico (OECD), para realizar testes de toxicidade aguda geralmente são usados roedores (principalmente ratos Wistar) e preferencialmente fêmeas, por serem mais sensíveis às propriedades toxicológicas. Ademais, é recomendado que sejam utilizados animais adultos jovens, saudáveis, sendo as fêmeas nulíparas e não-grávidas, entre 8 e 12 semanas de vida. A substância utilizada no estudo deve ser administrada em uma única dose por sonda esofágica, devendo os animais estarem em jejum de 3-4 horas antes da dosagem. A dose inicial para o estudo é selecionada a partir de níveis de dose fixos de 5, 50, 300 e 2000 mg/Kg com base em evidências de dados in vivo e in vitro da mesma substância. Normalmente são utilizados 5 animais para cada nível de dose investigado, sendo administrado em um animal inicialmente, analisado por 3-4 dias sobre sinais de toxicidade, para dar continuidade nos outros 4 animais que serão observados por no mínimo 14 dias. Letalidade é um dos parâmetros avaliados através de testes de toxicidade aguda que servem para identificar o potencial tóxico em órgãos específicos, identificar a toxicocinética e a relação dose resposta e serve como padrão para avaliação de testes em animais experimentais (VALADARES, 2006).

Para realização de testes de toxicidade subcrônica, segundo Guideline 407/1995 da OECD, os animais devem ser tratados com a substância teste diariamente por um período de 28 dias por gavagem em dose única por uma cânula esofágica, não excedendo 2mL/100g de peso corporal de soluções aquosas. Deve-se observar sinais de toxicidade nos animais durante todo tempo de tratamento. Os sinais de toxicidade que devem ser observados são:

mudanças na pele e pelos, olhos, membranas mucosas, padrão de comportamento, atividade somatomotora. Com atenção aos sinais de tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono e coma.

Alguns estudos em diferentes países avaliaram a toxicidade aguda e subcrônica de diversos cogumelos. Sobre o cogumelo *P. ostreatus*, foi encontrado apenas um estudo que avaliou sua toxicidade (LEBEQUE et al, 2018). Esses autores avaliaram toxicidade aguda a partir do pó de corpo de frutificação de *P. ostreatus* em uma única dose de 2000mg/Kg de seis camundongos BALB/c, sendo 3 machos e 3 fêmeas. Não foram constatadas alterações nos sinais clínicos dos animais, sendo classificado como potencialmente não tóxico. Tendo em vista o potencial benéfico de *P. ostreatus* e a carência de informações sobre a utilização de uma dose segura, torna-se fundamental avaliar a toxicidade desse cogumelo para embasar futuros estudos que analisem suas propriedades farmacológicas.

2.2 Resistência à insulina

A SM constitui um grande problema de saúde pública mundial, sendo uma condição médica cada vez mais prevalente, acometendo um quarto da população adulta no mundo (KHATUN et al, 2020; PUCCI et al, 2017). Fatores biológicos influentes na fisiopatologia da SM, como a resistência à insulina e aumento da gordura abdominal, impactam diferentemente entre homens e mulheres. Segundo Pucci et al (2017), através de revisão de literatura apontaram que a prevalência geral de SM foi maior em homens do que em mulheres até os 60 anos de idade, invertendo a prevalência posteriormente a esta idade. Isto relaciona-se com alterações fisiológicas hormonais que ocorrem nas mulheres durante a menopausa, aumentando a prevalência de cada fator associado ao desenvolvimento da SM. É considerado SM quando há presença de pelo menos três dos seguintes fatores: obesidade central, hiperglicemia, hipertensão, redução dos níveis de colesterol HDL e hipertrigliceridemia, os quais são fatores de risco para o desenvolvimento de DCNT. O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é uma das mais comuns, com alta prevalência de mortes em todo o mundo. Esta doença está diretamente relacionada à hiperglicemia, obesidade e resistência à insulina (KHATUN et al, 2020).

A insulina é um hormônio peptídico, secretado pelas células β -pancreáticas, que estimula a internalização da glicose nas células por meio da translocação dos seus receptores na membrana plasmática diminuindo a concentração de glicose sanguínea. Quando há uma diminuição da captação de glicose, há necessidade de concentrações maiores de insulina para internalização de glicose intracelular, distúrbio conhecido como resistência à insulina (RI) (MOHAMED, 2014). O estilo de vida está atrelado diretamente ao desenvolvimento de doenças. Sedentarismo e ingestão excessiva de calorias são fatores agravantes da RI, a qual está associada ao aumento da gordura visceral e subcutânea, causando uma resposta inflamatória sistêmica (GUTIERREZ-RODELO et al., 2017; BEALE, 2013.) O tecido adiposo branco, além de secretar citocinas pró-inflamatórias, possui função endócrina que regula o metabolismo lipídico e controle da hemostasia vascular. No estado de jejum, ocorre a indução de proteínas secretoras de adipócitos como fibrinogênio-angiopoietina, metalotioneína e resistina. A resistina induz a RI, a qual liga o diabetes à obesidade (MOHAMED, 2014).

Diversos alimentos funcionais ajudam a prevenir ou reduzir o risco de desenvolvimento de SM auxiliando os mecanismos de homeostase do organismo. Alguns destes são uma boa fonte de ligantes de receptores ativados por proliferadores de peroxissomo (PPAR) γ , um alvo terapêutico para a síndrome metabólica. Alimentos como noz-moscada, pimenta preta, manjerição e sálvia podem agir como moduladores seletivos do PPAR γ e melhorar a resistência à insulina (MOHAMED, 2014). Estudos prévios mostraram que flavonoides de cranberry foram eficazes no aumento da sensibilidade à insulina, melhora no perfil lipídico plasmático e diminuição da gordura visceral através da via adiponectina-AMPK (Shabrova et al, 2011). Polifenóis da uva como o estilbeno, resveratrol, quercetina flavanol, catequinas e antocianinas ajudam a atenuar o diabetes, melhorando a função das células β e sua perda (Zunino, 2009).

Fármacos hipoglicemiantes orais foram desenvolvidos para melhorar a sensibilidade à insulina e são utilizados no tratamento de pacientes diabéticos, porém podem apresentar efeitos colaterais indesejáveis a longo prazo como irritação gastrointestinal, hepatotoxicidade e risco cardiovascular (NWEZE et al, 2020; KHATUN et al, 2020). Estudos relacionados a agentes hipoglicemiantes

de origem vegetal vêm crescendo visando amenizar possíveis efeitos colaterais dos medicamentos utilizados por diabéticos (NWEZE et al, 2020).

P. ostreatus demonstra ser eficiente no controle glicêmico. Estudos prévios mostraram que ele é capaz de estimular a expressão e translocação do GLUT-4 em animais diabéticos (Xiong et al, 2018; Zhang et al, 2015). Ravi et al, (2013), mostraram efeitos benéficos do *P. ostreatus* sobre a função renal, colesterol e triglicerídeos de ratos com DM2. Já Jayasuriya et al (2015) em estudo com humanos, mostraram que dose de apenas 50 mg/kg de *P. ostreatus* foi suficiente para melhorar a resposta insulinêmica e a glicemia. Em outro estudo com humanos, foi verificado que homens diabéticos tratados com 3g de *P. ostreatus* por 3 meses obtiveram redução de 13% na hemoglobina glicada (Choudhury et al, 2013). Outro ponto relevante analisado é o peso corporal, que segundo a literatura, não varia significativamente com o uso de *P. ostreatus*. Xiong et al (2017), utilizaram o ergosterol presente no *P. ostreatus* em camundongos tratados com dieta hiperlipídica, não sendo observadas diferenças no peso corporal e ingestão alimentar. Somado a isso, Schneider et al (2011), avaliaram que o peso corporal não variou significativamente pela ingestão de cogumelos em humanos.

Apesar do crescente número de pesquisas com cogumelos, ainda há muito o que ser explorado. A espécie, os compostos presentes e a dose a ser administrada mostram-se fatores determinantes. Sabendo disto, o presente estudo visa analisar a ação do *P. ostreatus* no organismo em relação à glicemia.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Avaliar a ação do extrato de *P. ostreatus* sobre a glicemia de camundongos fêmeas C57BL/6 saudáveis.

3.2 Objetivos específicos

- I. Avaliar a toxicidade aguda e subcrônica;
- II. Avaliar a ingestão alimentar e hídrica;
- III. Avaliar o peso corporal;
- IV. Determinar a influência do extrato de *P. ostreatus* sobre a sensibilidade insulínica.

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, localizados no Campus Capão do Leão.

4.2 Obtenção do extrato e tratamento com *P. ostreatus*

Foram utilizadas 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 carbonato de cálcio (CaCO₃). 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% CaCO₃ e 3% gesso. A mistura foi acondicionada em sacos de polipropileno e pasteurizada 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°C e após a colonização foram abertos para a obtenção dos basidiomas em umidade relativa do ar entre 70 e 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 8 h, a 50°C, triturados em moedor (Cadence®) e armazenados a 4 °C. Posteriormente, 200g de cogumelo em pó seco e 2000 mL de etanol 70% foram colocados em um sistema de refluxo por 30 minutos a 100 °C. Feito isso, a mistura foi filtrada sob vácuo e a fração solúvel em etanol foi evaporada em um evaporador rotativo (modelo 803, Fisatom). O resíduo insolúvel em etanol foi re-extraído com 2000 mL de água por uma hora no mesmo sistema. Ao final, os extratos foram agregados e liofilizados até que o extrato seco foi obtido (GAMBATO et al., 2018).

O extrato de *P. ostreatus* liofilizado foi diluído em solução salina (NaCl 0,9%), para administração intragástrica conforme os protocolos descritos abaixo.

4.3 Considerações éticas

O projeto teve início após aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEAA/UFPel – n°. 24735-2020). Todos os procedimentos deste estudo foram realizados de acordo com a Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008, que estabelece normas para a Prática Didático-Científica da Vivisseccção 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 Animais

Foram utilizadas 5 ratas Wistar, com aproximadamente 60 dias, para realização do experimento 1 conforme o protocolo de toxicidade estabelecido pela OECD/OCDE 423 (OECD, 2001). Já para o experimento 2, foram utilizadas 32 camundongos fêmeas, da linhagem C57BL/6, com aproximadamente 60 dias. Todos os animais foram provenientes do Biotério do Campus Capão do Leão da UFPel. Os animais foram alojados em gaiolas com as seguintes características: medidas 65x25x15 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 (22-24oC e 40-60%, respectivamente, e ciclo de claro/escuro de 12 horas). Os animais receberam ração e água *ad libitum*.

4.5 Análise da toxicidade aguda

Para análise da toxicidade aguda (experimento 1) seguimos o protocolo estabelecido pela OECD/OCDE 423. Inicialmente, 1 rata recebeu dose única de extrato de *P. ostreatus* (2000mg/Kg) por gavagem intragástrica e foi observada ao longo dos primeiros 30 minutos e depois periodicamente (1h, 2h, 4h, 24h e 48h) para observações dos parâmetros descritos no protocolo da OECD/OCDE

423 como, por exemplo, tremores, convulsão, salivação, diarreia, letargia, coma etc. Não havendo sinais de toxicidade após 4 dias da administração inicial de *P. ostreatus* em 1 animal, mais 4 animais foram requeridos, totalizando um n=5, para nova administração da referida dosagem (2000mg/kg) e determinação da toxicidade aguda. Essas ratas foram observadas diariamente ao longo de 14 dias conforme parâmetros citados anteriormente. Após esse período, as ratas foram anestesiadas com isoflurano e eutanasiadas por exsanguinação.

Apesar das dosagens aqui sugeridas apresentarem efeitos benéficos como outras espécies de cogumelos (NG, 2015; CHI, 2017; REN, 2017), e serem indicadas como seguras para administração em roedores (chi et al., 2009; FONSECA et al., 2018; BLANCHE, 2019), o experimento 2 só foi realizado após certificação que o extrato não apresentava toxicidade aguda (experimento 1).

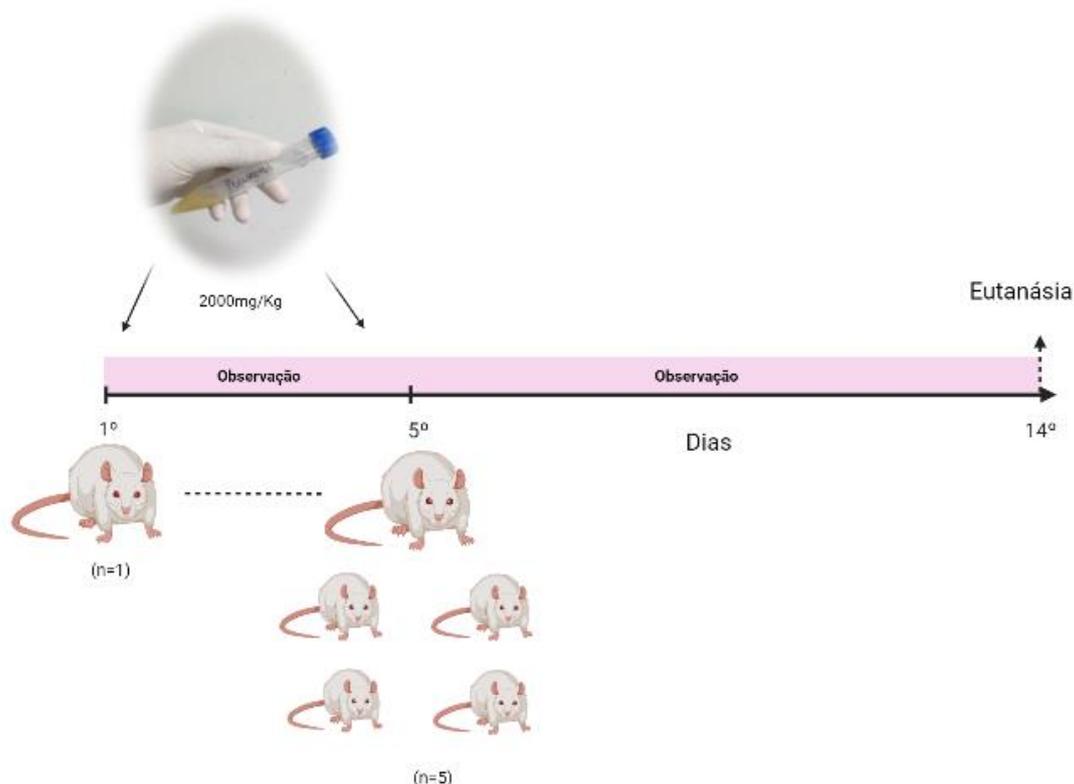


Figura 2 – Desenho experimental da toxicidade aguda (Criado em BioRender)

4.6 Análise da toxicidade subcrônica e sobre o metabolismo da glicose

Para análise da toxicidade subcrônica e da influência do extrato de *P. ostreatus* sobre parâmetros sistêmicos (experimento 2) foram utilizadas 32 camundongos fêmeas. Essas foram tratadas diariamente (8-9h) com extrato de *P. ostreatus* ou veículo por via intragástrica durante 4 semanas, conforme descrito abaixo (Figura 3):

1. Controle: camundongos tratados com soro fisiológico NaCl 0,9%;
2. *P. ostreatus* 500mg/kg: camundongos tratados com 500 mg/kg do extrato de *P. ostreatus*.
3. *P. ostreatus* 1000mg/kg: camundongos tratados com 1000 mg/kg do extrato de *P. ostreatus*.
4. *P. ostreatus* 2000mg/kg: camundongos tratados com 2000 mg/kg do extrato de *P. ostreatus*.

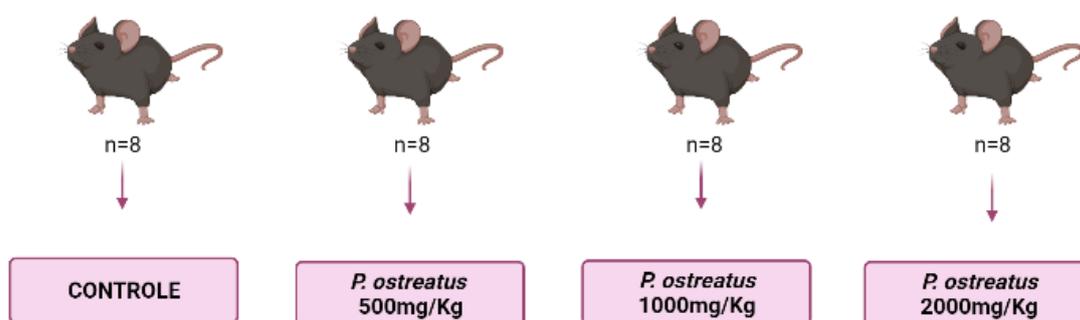


Figura 3 – Ilustração dos grupos de tratamento (criado em BioRender)

Os animais foram avaliados diariamente de acordo com os parâmetros de toxicidade descritos no OECD/OECD 421 (2001): tremores, convulsão, salivação, diarreia, letargia, coma etc., os quais não foram observados durante todo período experimental. Após 4 semanas de tratamento com *P. ostreatus*, os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por exsanguinação (Figura 4).

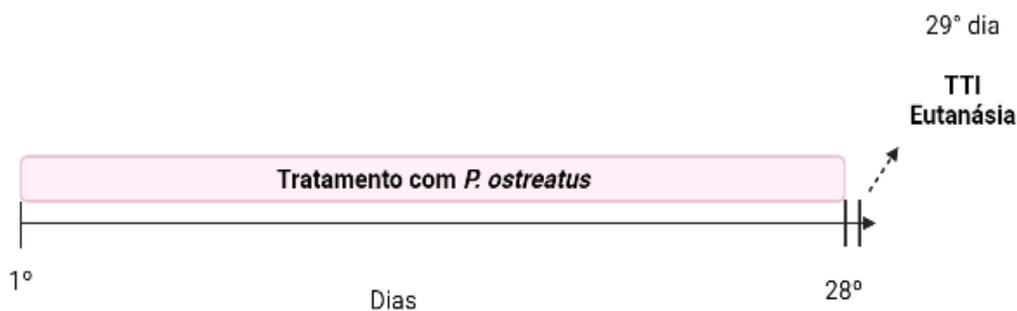


Figura 4 – Desenho experimental do experimento 2 (criado em BioRender)

4.7 Peso corporal, consumo alimentar e hídrico

O peso corporal foi aferido semanalmente através de balança digital. Os animais de todos os grupos receberam ração padrão para roedores marca Nuvilab e o consumo alimentar foi mensurado semanalmente pela diferença em gramas entre a quantidade ofertada e a quantidade restante. O consumo hídrico foi avaliado semanalmente, monitorado pela diferença em mL da quantidade de água ofertada e quantidade restante ao longo do período experimental.

4.8 Teste de tolerância à insulina (TTI)

Ao final do período de tratamento, foi realizado o TTI. Após jejum de 4h, os animais receberam injeção intraperitoneal de insulina (0,5 U/kg de peso corporal) (Figura 5).



Figura 5 – Demonstração da aplicação de insulina via intraperitoneal em camundongo (criado em BioRender)

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) (Figura 6).

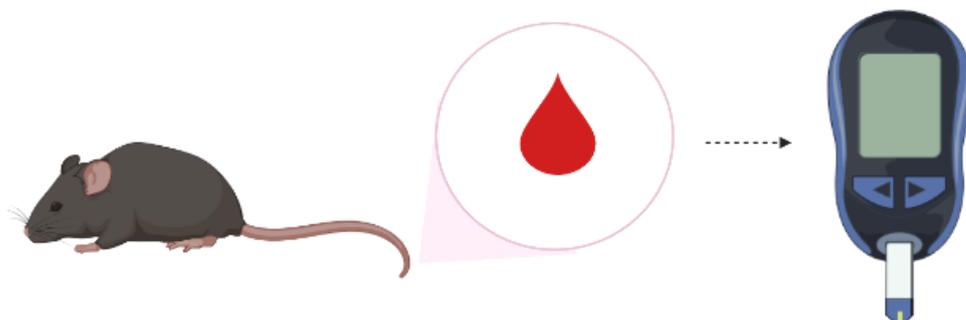


Figura 6 – Ilustração do TTI (criado em Biorender).

4.9 Taxa de decaimento da glicemia (KITT)

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

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

4.10 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.

4.11 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). As análises foram realizadas usando o software Graph Pad Prism 8. Para os resultados de variação de peso (peso inicial/ peso final), glicemia basal e KITT foi utilizado ANOVA de 1 via. ANOVA de 2 vias foi utilizada para análise do peso corporal, consumo alimentar, consumo de água e TTI. Foi utilizado o teste de Bonferroni como complementar as análises de variância, aceitando o nível de significância de 5%.

5 Resultados

5.1 Toxicidade

Inicialmente apenas uma rata Wistar recebeu o extrato de *P. ostreatus* (2000 mg/kg) sendo observada por 4 dias. Não observamos quaisquer tipos de anormalidades ao analisarmos: tremores, convulsão, diarreia, letargia, coma etc, sugerindo que não houve toxicidade aguda. Feito isso, todas as ratas (n=5) receberam dosagem única do extrato de *P. ostreatus* e foram observadas durante 14 dias. Foram mensurados peso basal e final dos animais não havendo variações significativas, assim como consumo alimentar e hídrico.

O experimento de toxicidade subcrônica foi realizado durante 4 semanas de intervenção, com dose diária do extrato de *P. ostreatus*. Não foram constatados nenhum tipo de anormalidade segundo os parâmetros sugeridos: tremores, convulsão, salivação, diarreia, letargia, coma etc., evidenciando ser seguro quando administrado doses de até 2000mg/Kg ao dia em camundongos.

5.2 Peso corporal

Ao analisarmos a variação do peso inicial e final de cada grupo experimental (Figura 7), não observamos variações significativas. A figura 8 mostra o peso corporal ao longo das 4 semanas de experimento. Esse foi semelhante entre os grupos previamente à administração do extrato, mas reduzido significativamente nos grupos tratados em relação ao controle na primeira semana. Na terceira semana, o peso nos grupos *P. ostreatus* 500 e *P. ostreatus* 2000mg/Kg foi significativamente menor em relação ao grupo controle. Não observamos diferenças significativas entre os grupos nas semanas 2 e 4.

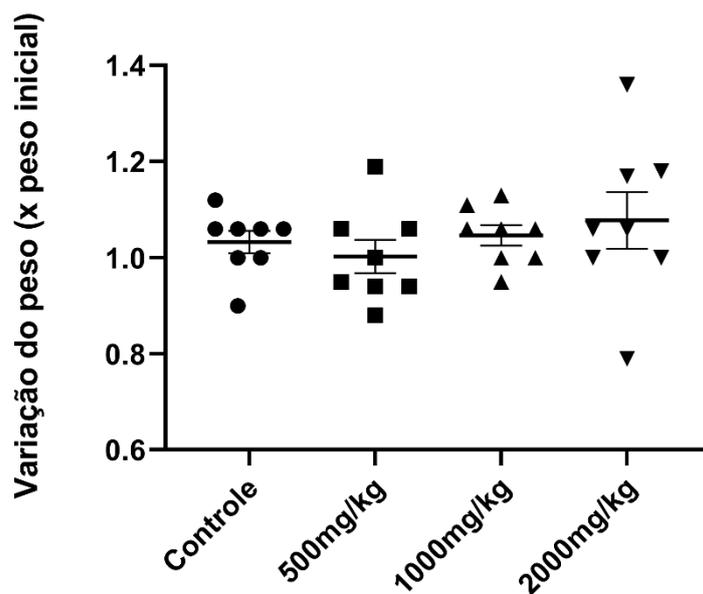


Figura 7 – Variação do peso corporal. Dados expressos como variação relativa do peso corporal em gramas ao final do tratamento em relação ao peso basal. ($F = 0,6847$; $P = 0,5689$).

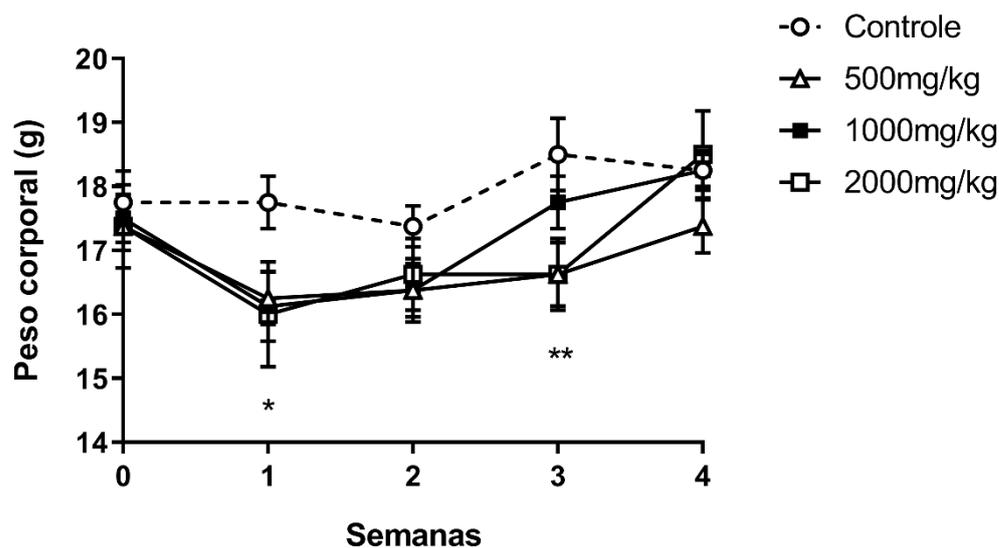


Figura 8 – Peso corporal ao longo de quatro semanas de tratamento. Dados expressos como média \pm EPM.

* diferença significativa de todos os grupos tratados vs grupo Controle no respectivo tempo experimental ($P < 0,0001$).

** diferença significativa dos grupos *P. ostreatus* 500 e 2000 mg/kg vs grupo Controle no respectivo tempo experimental ($P < 0,0001$).

5.3 Consumo alimentar e hídrico

A figura 9 mostra a variação do consumo alimentar ao longo do experimento. Esse foi maior no grupo *P. ostreatus* 500mg/Kg nas semanas 2, 3 e 4 quando comparado ao seu consumo basal. Já o grupo *P. ostreatus* 1000 mg/Kg apresentou oscilação no consumo alimentar. Esse foi significativamente reduzido na 1ª semana, mas aumentado na 2ª semana, não diferindo do basal nas demais semanas de estudo. O *P. ostreatus* 2000mg/Kg apresentou menor consumo quando comparado ao grupo *P. ostreatus* 500mg/Kg na semana 1. O consumo dos grupos *P. ostreatus* 500mg/Kg e *P. ostreatus* 1000mg/Kg foi equivalente na 2 semana, sendo maior contrapondo os grupos Controle e *P. ostreatus* 2000mg/Kg. Não observamos variação significativa do consumo alimentar no grupo controle durante as 4 semanas de tratamento.

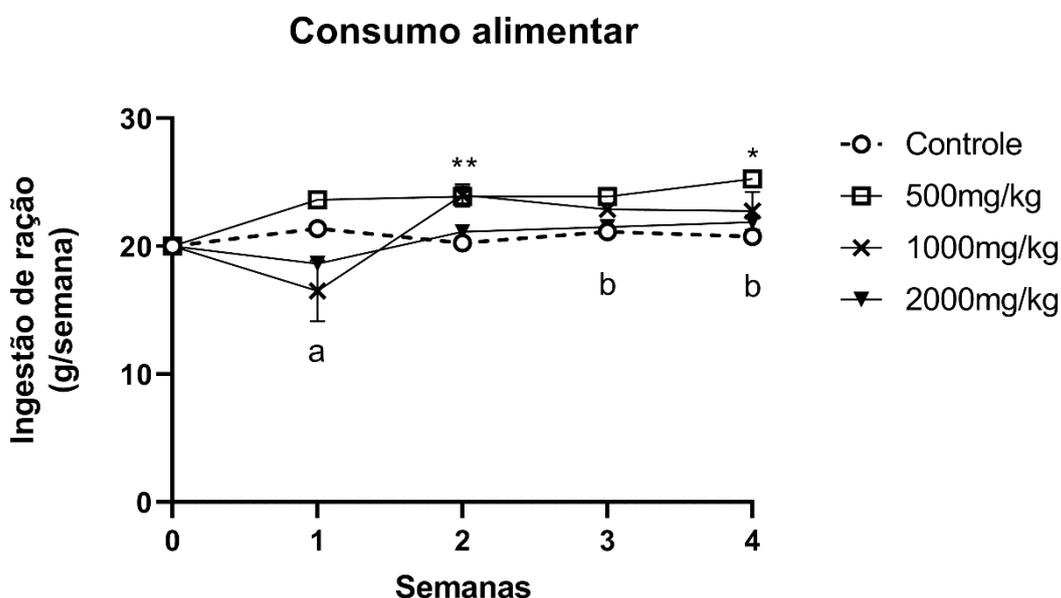


Figura 9 – Análise do consumo alimentar ao longo de quatro semanas experimentais. Dados expressos como média \pm EPM.

* diferença significativa *P. ostreatus* 500 vs *P. ostreatus* 500 basal ($P < 0,001$);

** diferença significativa *P. ostreatus* 1000 vs *P. ostreatus* basal ($P < 0,05$);

a diferença significativa grupos *P. ostreatus* 1000 ($P < 0,0001$) e 2000 ($P < 0,05$) vs *P. ostreatus* 500 ao final da primeira semana;

b diferença significativa do grupo *P. ostreatus* 1000 vs *P. ostreatus* ao final da primeira semana ($P < 0,01$).

A Figura 10 aponta as variações da ingestão de água ao longo do experimento. Na semana 1, o grupo *P. ostreatus* 500mg/Kg aumentou o consumo hídrico quando comparado com o grupo Controle. O grupo controle apresentou menor consumo quando comparado ao consumo basal na semana 2. O grupo *P. ostreatus* 500mg/Kg apresentou aumento significativo no consumo na semana 4 quando equiparado com todas as outras semanas. Diferenças significativas foram verificadas no grupo *P. ostreatus* 2000mg/Kg nas semanas 3 e 4 em relação às outras semanas e consumo basal.

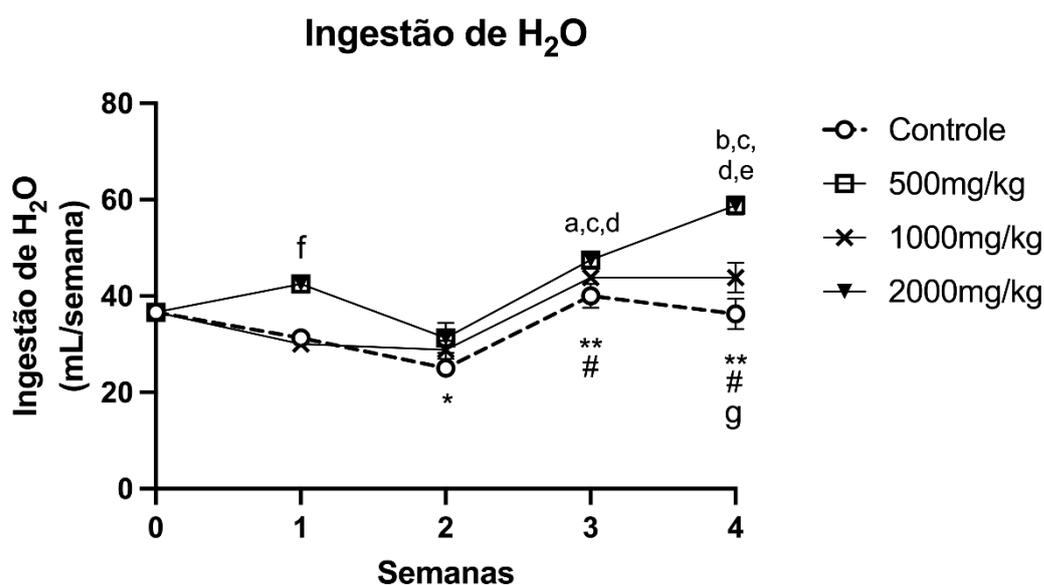


Figura 10 – Análise da ingestão de água ao longo de quatro semanas experimentais.

* diferença significativa Controle vs Controle basal ($P < 0,001$)

** diferença significativa Controle vs Controle semana 2 ($P < 0,05$)

diferença significativa *P. ostreatus* 500 vs *P. ostreatus* 500 basal ($P < 0,001$)

a diferença significativa *P. ostreatus* 500 vs *P. ostreatus* 500 semana 2 ($P < 0,0001$)

b diferença significativa *P. ostreatus* 500 vs *P. ostreatus* 500 semanas 1, 2 e 3 ($P < 0,05$)

c diferença significativa *P. ostreatus* 1000 vs *P. ostreatus* 1000 semana 1 e 2 ($P < 0,01$)

d diferença significativa *P. ostreatus* 2000 vs *P. ostreatus* 2000 semana 1 ($P < 0,0001$)

e diferença significativa *P. ostreatus* 2000 vs *P. ostreatus* 2000 basal ($P < 0,01$)

f diferença significativa *P. ostreatus* 500 e 2000 vs *P. ostreatus* 1000 na semana 1 ($P < 0,01$)

g diferença significativa *P. ostreatus* 500 e 2000 vs controle na semana 4 ($P < 0,0001$)

5.4 Glicemia, TTI e KITT

A glicemia média foi $103,63 \pm 7,39$ mg/dL, não sendo significativamente diferente entre os grupos. Em relação ao TTI, observamos decaimento da glicemia durante os tempos (5, 20, 35 e 60 minutos). A qual foi significativamente reduzida nos grupos tratados com *P. ostreatus* entre os tempos 5 e 20 minutos em comparação ao grupo controle. Essa se manteve menor nos grupos tratados em relação ao controle ao longo dos demais tempos experimentais, com exceção da glicemia do grupo *P. ostreatus* 1000mg/Kg aos 60 minutos (Figura 11).

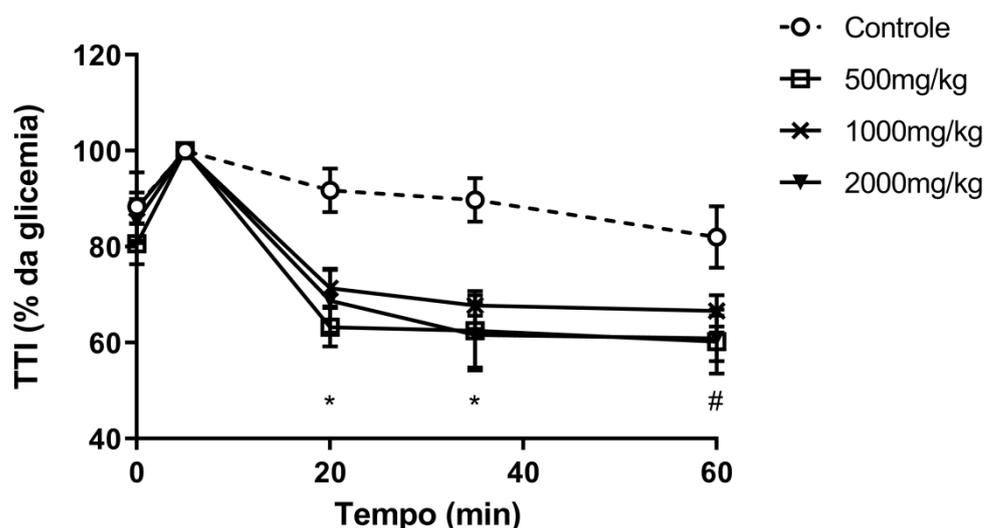


Figura 11 – Teste de tolerância à insulina (TTI) ao final do período experimental. Dados expressos como média \pm EPM. * diferença significativa dos grupos *P. ostreatus* 500 ($P < 0,001$), *P. ostreatus* 1000 ($P < 0,01$) e *P. ostreatus* 2000 ($P < 0,001$) vs grupo Controle; # diferença significativa dos grupos *P. ostreatus* 500 ($P < 0,01$) e *P. ostreatus* 2000 ($P < 0,05$) vs grupo Controle.

No que concerne a constante de decaimento da glicemia, os grupos *P. ostreatus* 500mg/Kg e *P. ostreatus* 2000mg/Kg apresentaram maior variação em relação ao grupo controle. Já o grupo *P. ostreatus* 1000mg/Kg não diferiu significativamente em relação ao controle e aos demais grupos tratados (Figura 12).

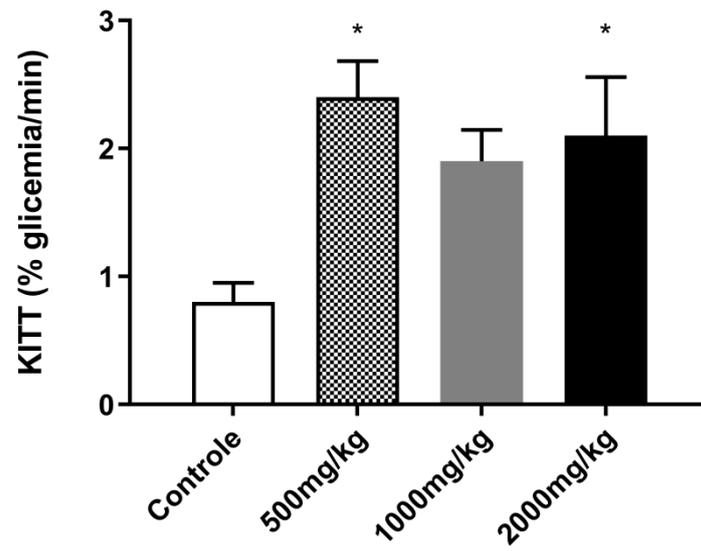


Figura 12 - Constante do decaimento da glicemia (KITT). Dados expressos como média \pm EPM.
* diferença significativa vs grupo Controle.

6 Discussão

No presente estudo, nosso principal achado foi mostrar que o extrato do cogumelo *P. ostreatus* aumenta a sensibilidade insulínica. Somado a isso, o fato de nenhuma das concentrações desse extrato ter sido prejudicial aos animais no período estudado em camundongos fêmeas saudáveis, esse emerge com grande potencial para ser utilizado como adjuvante na prevenção/tratamento da resistência insulínica.

Não observamos nenhum sinal de toxicidade aguda/subcrônica em nosso estudo, indo de encontro aos achados de Lebeque et al (2018), os quais avaliaram toxicidade aguda a partir do pó de corpo de frutificação de *P. ostreatus* em uma única dose de 2000mg/Kg de seis camundongos BALB/c, sendo 3 machos e 3 fêmeas. Não foram constatadas alterações nos sinais clínicos dos animais, sendo classificado como potencialmente não tóxico.

Não foi encontrado nenhum estudo que testou toxicidade subcrônica do extrato de *P. ostreatus* em camundongos, porém, conforme o experimento realizado, nenhum sinal de toxicidade subcrônica foi constatado, sendo seguro o uso de até 2000mg/Kg ao dia. Outros estudos avaliaram alguns cogumelos comestíveis em relação a toxicidade. Lee et al (2019), avaliaram a segurança dos micélios de *Hericium erinaceus* enriquecidos com erinacina A por meio de uma alimentação subcrônica nas doses de 875mg/Kg, 1750mg/Kg e 2625mg/Kg. Foram 60 ratos Sprague-Dawley fêmeas e machos. Os resultados não apresentaram sinais toxicológicos do consumo de *H. erinaceus* por tempo prolongado. Um outro estudo analisou a toxicidade aguda do pó liofilizado de *Amauroderma rugosum* em 12 ratos Sprague Dawley fêmeas com uma dose única de 2000mg/Kg, não apresentando nenhum sinal de toxicidade. Pan et al (2017), analisaram a toxicidade aguda e subcrônica de *Amauroderma rude* a fim de fornecer uma base científica para possível uso como alimento. Para toxicidade aguda foram utilizados 20 camundongos machos e fêmeas, com uma dose do extrato aquoso de *A. rude* de 15000 mg/Kg. Para toxicidade subcrônica foram utilizados 104 ratos Sprague Dawley machos e fêmeas com doses de 0,1g; 0,2g; 0,4g. Nenhum efeito de toxicidade foi relatado.

Algumas oscilações no peso corporal dos animais foram observadas no presente estudo. Todos os grupos tratados com o extrato diminuíram o peso em

relação ao grupo controle na 1ª semana, porém não mostraram diferença significativa entre o peso inicial e final durante o experimento. Corroborando com nossos achados, Xiong et al (2017), também não constataram uma oscilação significativa do peso corporal em animais avaliados com ergosterol presente no *P. ostreatus* em camundongos que consumiam uma dieta hiperlipídica. Já Sheng et al (2019) observaram uma redução de peso em camundongos machos C57BL/6J, obesos com dieta hiperlipídica, tratados com extrato aquoso de *P. citrinopileatus* objetivando a análise dos efeitos antiobesidade e hipolipemiante do mesmo.

O consumo alimentar variou entre os grupos durante as semanas de tratamento. *P. ostreatus* 500mg/Kg aumentou o consumo na 1ª semana diferentemente dos outros grupos tratados que diminuíram o consumo, mantendo-se em uma média até o final do experimento. Na 2ª semana, o grupo 1000mg/Kg aumentou o consumo em relação à 1ª semana. Após, não houveram diferenças significativas entre os grupos. O que não foi constatado em outros estudos com este cogumelo, como no de Xiong et al (2017), onde não apresentaram diferenças no consumo alimentar em ratos com dieta hiperlipídica.

Segundo Lindequist & Haertel (2020) as propriedades farmacológicas estudadas nos cogumelos são atribuídas aos compostos bioativos, principalmente, os polissacarídeos. 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). No presente estudo, observamos que todas as doses do extrato apresentaram maior sensibilidade à insulina quando comparados ao grupo controle no TTI. As doses de 500 e 2000mg/kg mostraram melhores resultados que o grupo 1000mg/kg. 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). Jayasuriya et al (2012) mostraram que a dose de 500mg/Kg foi a mais promissora dentre outras testadas (250, 500, 750, 1000 e 1250mg/kg) em ratos wistar diabéticos, apresentando melhor ação hipoglicemiante e menor valor de hemoglobina glicada. Ravi et al. (2013) também demonstraram efeitos hipoglicemiantes em camundongos diabéticos

pela administração de *P. ostreatus*, porém em uma dosagem menor (250mg/kg) das quais foram testadas em nosso trabalho.

Assim como no trabalho de Ng, et al (2015) os compostos ativos não foram avaliados de forma isolada e sim como extrato, os quais podem conter outros compostos antagônicos ao efeito esperado, podendo ser uma justificativa a dose de 1000mg/Kg não se mostrar significativamente eficaz como as outras. No estudo prévio por Ng et al (2015) foram analisados o efeito hipoglicêmico de *Pleurotus sajor-caju* em ratos diabéticos e induzidos por estreptozotocina, assim como a toxicidade aguda do extrato aquoso do mesmo. Em relação ao efeito hipoglicemiante, foram testadas doses de 750 e 1000mg/Kg em animais controle e diabéticos por 21 dias, demonstrando que as duas doses obtiveram efeito semelhante ao da metformina, um antidiabético oral da classe das biguanidas. Ratos tratados com a dose de 750mg/Kg obtiveram queda superior nos níveis de glicemia (23,5%) após 6 horas da administração do extrato comparados com os que receberam 1000mg/kg (21,2%), mostrando que a dose de 750 possui efeito hipoglicemiante mais imediato que as demais. Em relação a toxicidade aguda, o extrato de *Pleurotus sajor-caju* até 5 e 10 vezes a dose efetiva, não apresentou nenhum tipo de efeito tóxico e nenhuma morte foi relatada (Ng et al, 2015).

A taxa de decaimento da glicose pode ser determinada pela supressão da produção hepática de glicose e pelo estímulo à captação de glicose pelas células alvo. Quanto mais rápida e intensa for a queda maior será a sensibilidade à insulina. Essa queda é observada nos minutos 5 e 20 após aplicação de insulina refletindo a captação de glicose pelos tecidos e inibição de glicose pelo fígado (GELONEZE & TAMBASCIA, 2006). Os grupos *P. ostreatus* 500mg/Kg e 2000mg/Kg apresentaram maior taxa de decaimento da glicemia contrapondo o achado por Degrandis (2021) que apesar das doses 500 e 1000mg/Kg apresentarem melhor taxa de decaimento, não apresentaram resultados significativos em camundongos machos saudáveis tratados com as mesmas dosagens do extrato de *P. ostreatus*. Em um outro estudo do grupo, dessa vez utilizando *P. albidus* na dose de 500mg/Kg, também não foram observados decaimentos significativos na glicemia de camundongos machos saudáveis (COSTA, 2019).

7 Conclusão e Perspectivas

O presente trabalho visou um estudo de base para futuras pesquisas que explorem o uso medicinal dos cogumelos, apontando que o da espécie *Pleurotus ostreatus* melhora a sensibilidade à insulina, mostrando grande potencial como adjuvante na prevenção/tratamento de doenças relacionadas à resistência insulínica, não apresentando nenhum sinal de toxicidade.

8 Referências

ADEBAYO, E A & OLOKE, J K. Oyster Mushroom (*Pleurotus* Species); A Natural Functional Food. **The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**; v. 7(3), p. 254-264, 2017.

AIDA, Farag 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.

ALAM, Nuhu et al. Hypolipidemic activities of dietary *Pleurotus ostreatus* in hypercholesterolemic rats. **Mycobiology**, v. 39, n. 1, p. 45-51, 2011.

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.

ARIHARA, Keizo. Strategies for designing novel functional meat products. **Meat Science**, v.74, n.1, p.219-229, 2006.

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.

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 CO₂. **Food chemistry**, v. 330, p. 127-173, 2020.

BASTOS, Deborah et al. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53(5), 2009.

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

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.

CARRASCO-GONZALEZ, Jorge A et al. Mycochemical Changes Induced by Selenium Enrichment in *P. Ostreatus* Fruiting Bodies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 20, 2017.

CARRASCO-GONZÁLEZ, Jorge A et al. Nutritional Composition and Nutraceutical Properties of the Pleurotus Fruiting Bodies: Potencial Use as Food Ingredient. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 58, 2017.

CERLETTI, Chiara; ESPOSITO, Simona; LACOVIELLO Licia. Edible Mushrooms and Beta-Glucans: Impact on Human Health. **Nutrients**, v.13, p. 2195, 2021.

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.

CHI, Quanbo et al. Ethanolic Extract of the Golden Oyster Mushroom, Pleurotus citrinopileatus (Agaricomycetes), Alleviates Metabolic Syndrome in Diet-Induced Obese Mice; **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v.19(11), p. 1001-1008, 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.

ČILERDŽIĆ, 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.

CONFORTIN, Fernanda et al. Production of Pleurotus sajor-caju strain PS-2001 biomass in submerged culture. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35. p. 1149, 2008.

CORTÉS-ROJO, Christian et al. Interplay between NADH oxidation by complex I, glutathione redox state and sirtuin-3, and its role in the development of insulin resistance. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1866(8), 2020.

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

CUNHA, Luiz C. et al. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de Synadenium umbellatum Pax. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 403-411, 2009.

DEGRANDIS, Fabrício Tabelaio. **Ação do cogumelo Pleurotus ostreatus sobre a regulação glicêmica em camundongos C57BL/6 saudáveis**.

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

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.

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

FOGARASI Melinda et al. Bioactive Compounds and Volatile Profiles of Five Transylvanian Wild Edible Mushrooms. **Molecules**, v. 23(12), p. 3272, 2018.

FONSECA, Aldilane Gonçalves et al. In vivo and in vitro toxicity evaluation of hydroethanolic extract of *Kalanchoe brasiliensis* (Crassulaceae) leaves. **Journal of Toxicology**, v. 2018, 2018.

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.

GELONEZE, Bruno; TAMBASCIA, Marcos Antonio. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50(2), 2006.

GOLDIM, JR & RAYMUNDO MM. **Pesquisa em Saúde e os Direitos dos Animais**. 2ª ed. Porto Alegre: HCPA; 1997.

GONZÁLEZ, Abigail et al. Evaluation of functional and nutritional potential of a protein concentrate from *Pleurotus ostreatus* mushroom. **Food chemistry**, v. 346, 2021.

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

GUTIÉRREZ-RODELO, Citlaly et al. Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización [Molecular Mechanisms of Insulin Resistance: An Update]. **Gaceta medica de Mexico**, v. 153(2), p. 214-228, 2017.

JAYAKUMAR, T; RAMESH, E & GERALDINE P. Antioxidant activity of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, CCl₄-induced liver injury in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.44(12), p. 1989-1996, 2006.

JAYASURIYA, WJA Bakunie 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**, 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, WJA Banukie N et al. Anti-Inflammatory Activity of *Pleurotus Ostreatus*, a Culinary Medicinal Mushroom, in Wistar Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.

KALAC, Pavel. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 9–16, 2009.

KHAN, Md Asaduzzaman; TANIA, Mousumi. Nutritional and Medicinal Importance of *Pleurotus* Mushrooms: An Overview. **Food Reviews International**, v. 28, n. 3, 2012.

KHAN, Asma Ashraf et al. Mushroom varieties found in the Himalayan regions of India: Antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities. **Food science and biotechnology**, v. 25(4), p. 1095-1100, 2016.

KHATUN, Mst Afifa et al. Obesity preventive function of novel edible mushroom, *Basidiomycetes-X* (*Echigoshirayukidake*): Manipulations of insulin resistance and lipid metabolism. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**; v. 10(3), p. 245-251, 2020.

KIM, Ye Ji et al. Quality Characteristics and Antioxidant Activities of Cookies Added with *Pleurotus Eryngii* Powder. **Korean Journal of Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, 2010.

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.

LEE, Li-Ya et al. Thirteen-Week Oral Toxicity Evaluation of Erinacine A Enriched Lion's Mane Medicinal Mushroom, *Herichium erinaceus* (Agaricomycetes), Mycelia in Sprague-Dawley Rats. **International journal of medicinal mushrooms**, v. 21(4), p. 401-411, 2019.

LIN, Rong-Tsung et al. Acupoint-specific, frequency-dependent, and improved insulin sensitivity hypoglycemic effect of electroacupuncture applied to drug-combined therapy studied by a randomized control clinical trial. **Evidence-based complementary and alternative medicine**. v. 2014, 2014.

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.

MIRCEA, Cornelia et al. In Vitro Antioxidant Activity of Some Extracts Obtained from *Agaricus Bisporus* Brown, *Pleurotus Ostreatus* and *Fomes Fomentarius*. **Farmacía**, v. 63, n. 6, 2015.

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

MOHAMED, Suhaila. Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease, **Trends in Food Science & Technology**, v. 35(2),p. 114-128, 2014.

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

NWEZE, Chibuzo Carole; RASAQ, Nurudeen Olajide; BLESSING, Ibrahim Istifanus. Ameliorating effect of *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* mixed diet on Alloxan-induced hyperglycemic rats. **Scientific African**, v.7, 2020.

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.

OECD 1995. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Guideline 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodent**. Acessado em fevereiro de 2021 em <http://www.oecd.org/publications> Paris: Head of Publications Service.

OECD 2001. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Guideline 423: Acute Oral Toxicity -Acute Toxic Class Method**. Acessado em fevereiro de 2021 em <http://www.oecd.org/publications> Paris: Head of Publications Service.

PAN, Honghui et al. Acute and Subchronic Toxicity of Dusky-Skinned Mushroom, *Amauroderma Rude* (*Agaricomycetes*). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 19, n. 8, 2017.

PATEL, Pinal et al. Experimental Investigation of Anti-Rheumatoid Activity of *Pleurotus Sajorcaju* in Adjuvant-Induced Arthritic Rats. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 10, n. 4, 2012.

PAZZA, Aline C Vieira et al. Composição Nutricional e Propriedades Funcionais Fisiológicas de cogumelos Comestíveis: *Agaricus brasiliensis* e *Pleurotus ostreatus*. **FAG Journal of Health**, v.1, n.3, p.240-265, 2019.

PUCCI, Giacomo et al. Sex- and gender-related prevalence, cardiovascular risk and therapeutic approach in metabolic syndrome: A review of the literature, **Pharmacological Research**, v. 120, p. 34-42, 2017.

RAMAN, Jegadeesh et al. Cultivation and Nutritional Value of Prominent *Pleurotus* Spp.: An Overview. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, 2021.

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.

REN, Zhenzhen et al. Anti-hyperlipidemic and antioxidant effects of alkali-extractable mycelia polysaccharides by *Pleurotus eryngii* var. *tuolensis*, **Carbohydrate Polymers**, v.175, p. 282-292, 2017.

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

SARTORI, Sergio B et al. *Pleurotus* biomass production on vinasse and its potential use for aquaculture feed, **Mycology: An International Journal on Fungal Biology**, v.6, n.1, p.28-34, 2014

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.

SHABROVA, Elena V et al. Insights into the Molecular Mechanisms of the Anti-Atherogenic Actions of Flavonoids in Normal and Obese Mice. **Plos one**, v. 6(10), 2011.

SHARMA, Aparajita et al. "Biological Activities of *Pleurotus* Spp. Polysaccharides: A Review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 6, 2021.

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.

SHENG, Yao et al. Anti-obesity and hypolipidemic effect of water extract from *Pleurotus citrinopileatus* in C57BL/6J mice. **Food Science & Nutrition**, v. 7(4), p. 1295-1301, 2019.

SHIRSAT, Pallavi et al. Subacute Toxicity Study of the Ethanolic Extract of *Mesua Ferrea* (L.) Flowers in Rats. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 18, p. 1-8, 2020.

SILVA, Ana Carolina; JORGE, Neuza. Antioxidant Properties of *Lentinus Edodes* and *Agaricus Blazei* Extracts. **Journal of Food Quality**, v. 34, n. 6, 2011.

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.

VALADARES, Marize C. AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE AGUDA: ESTRATÉGIAS APÓS A "ERA DO TESTE DL50. **Revista Eletrônica De Farmácia**, v. 3(2), 2006.

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.

XIE, Jian-Hua et al. Advances on Bioactive Polysaccharides from Medicinal Plants. **Dietary Phytochemicals: Nutrition and Health**, v. 56, p. S60-S84, 2016.

XIONG, Mingrui et al. Antidiabetic Activity of Ergosterol from *Pleurotus Ostreatus* in KK-Ay Mice with Spontaneous Type 2 Diabetes Mellitus. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 62, n. 3, 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.

ZHANG, Jiao-Jiao et al. Meroterpenoids From *Ganoderma lucidum* Mushrooms and Their Biological Roles in Insulin Resistance and Triple-Negative Breast Cancer. **Frontiers in chemistry**, v. 9, p. 772740, 2021.

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.

ZUNINO, Susan J. Type 2 Diabetes and Glycemic Response to Grapes or Grape Products, **The Journal of Nutrition**, v. 139(9), p. 1794S-1800S, 2009.

Anexos

Anexo A – Carta de Aprovação CEEA/UFPEL

11/12/2020

SEI/UFPEL - 1152906 - Parecer



PARECER Nº
PROCESSO Nº

155/2020/CEEA/REITORIA
23110.024735/2020-39

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação da toxicidade in vivo do extrato de Pleurotus albidus**”, registrada com o nº 23110.024735/2020-39, sob a responsabilidade de **Paulo Cavalheiro Schenckel** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **08 de dezembro de 2020**.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	04/01/2021 a 31/08/2023
Espécie/linhagem/raça	<i>Mus musculus</i> /C57BL/6 e <i>Rattus norvegicus</i> /Wistar
Nº de animais	64 camundongos e 5 ratos
Idade	60 dias
Sexo	32 camundongos machos, 32 camundongos fêmeas e 5 ratos fêmeas
Origem	Biotério Central - UFPEL

Código para cadastro nº **CEEA 24735-2020**

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, Médico Veterinário**, em 11/12/2020, às 16:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1152906** e o código CRC **CA9266F0**.