

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



Dissertação

**Efeito da suplementação com extrato de *Pleurotus albidus* na resistência
insulínica**

Karen Martirena Monks da Silva

Pelotas, 2022

Karen Martirena Monks da Silva

Efeito da suplementação com extrato de *Pleurotus albidus* na resistência insulínica

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

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cavalheiro Schenkel

**Dedico este trabalho ao meu filho Mathias. És a
motivação para todas as minhas lutas. És o meu
maior e melhor presente! A mamãe te ama muito.**

Agradecimentos

Inicialmente agradeço a Deus, que permitiu que eu sentisse todo o Seu amparo, me dando força nos momentos de insegurança, me conduzindo à compreensão nos momentos de dificuldades e me inspirando na valorização dos momentos de felicidade, fortalecendo assim a minha caminhada.

Agradeço a minha família. Obrigada Dindo e Vera, pela atenção e afeto. Obrigada tia Jana e Mano, por me apoiarem como sempre, com cuidado, dicas e ferramentas tão necessárias para o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada vó e vô (*in memoriam*), por serem fonte de ótimas lembranças, amor e afago. Obrigada primos, Pepezinho e Cacaia. Obrigada afilhados Antônia, Lívia, Mariana, Manuela e Joaquim por toda a alegria que vocês me trazem. Obrigada Lu pelas conversas e palavras de incentivo em meio a toda correria. Obrigada Júlio por valorizar o meu trabalho e as minhas conquistas.

Em especial agradeço ao meu pai Eugênio, que é o meu porto seguro, minha mãe Jurema, que é a minha inspiração e minha irmã Carol, que é a minha pessoa nesta vida. Obrigada por todos os ensinamentos, por serem a minha base, por acreditarem em mim e me apoiarem sempre.

À todos que cuidaram do Mathias, amor da minha vida, nos momentos em que não pude estar presente. Obrigada Karen, Isa, Bia e Anderson, por todo o zelo, amor e carinho dedicados a ele. Obrigada por toda ajuda nestes momentos, ela foi fundamental para que eu pudesse seguir nesta jornada, com a tranquilidade de saber que ele estava sendo muito bem cuidado por vocês.

Ao Anderson novamente, pelo suporte em muitos momentos necessários e por tentar compreender a correria diária em meio a realização de atividades da vida acadêmica. Isso foi muito importante para que eu pudesse me manter nesta jornada de estudos.

Agradeço às amigas de longa data, Venise, Angelica e Jerusa pelo apoio e pela compreensão nos momentos de ausência.

Obrigada à amiga Riceli, por todos os áudios e mensagens compartilhados, pelo apoio na graduação, pós-graduação e na vida.

Aos professores e colegas do PPGNA, por todos os ensinamentos e

momentos compartilhados.

Ao grupo “mães mestras” Ju, Ba e Camila, obrigada pelos mates em aula, (antes da pandemia), pelas conversas e desabafos. Ter conhecido vocês tornou esta jornada muito melhor. “Uma não solta a mão da outra”.

À Júlia, Paola e Mari. Obrigada gurias pela afabilidade, generosidade e parceria. A acolhida de vocês foi muito importante no meu ingresso na nutrição experimental.

À Sabrina pela disponibilidade e gentileza no auxílio de experimentos.

À Cris, Ju, Pati e a todos do Biotério, pela alegria de nos receber, pela ajuda e por toda atenção dada a todos que utilizam o espaço.

Ao Fabrício e Paulo, muito obrigada mesmo por toda ajuda e apoio de vocês em momentos que me impossibilitaram de dar continuidade no trabalho.

À Taís, minha dupla de laboratório e processos seletivos, obrigada pela amizade, por todas as conversas e ajuda em experimentos.

Agradeço ao Prof. Dr. Augusto Schneider por toda a contribuição dada a este trabalho na qualificação de projeto. E à Profa. Dra. Denise Calisto Bongalhardo por permitir que eu fizesse a docência orientada nas disciplinas ministradas por ela e com isso me proporcionado tantos aprendizados.

Ao LaFiCardio, local que eu pude ter muitos ensinamentos. Pertencer a esta equipe é um grande presente pra mim.

Ao professor Paulo Schenkel, meu orientador, um agradecimento imenso por todas as oportunidades de aprendizado e por toda a tua disponibilidade em ajudar. Obrigada pela generosidade de ter aceitado me orientar, mesmo sabendo que eu era de outra linha de pesquisa, e por ter me proporcionado, diante disso, a alegria de poder trabalhar na área de experimental. Obrigada pela confiança, compreensão e motivação nos momentos de dificuldade. Saiba que sou muito grata por ter sido orientada por um profissional admirável e além disso uma pessoa excepcional.

Por fim, e não menos importante, às professoras Dra. Simone Pieniz e Dra. Mayara Soares de Aguiar, pela disponibilidade e gentileza de aceitarem compor a banca de defesa desta dissertação.

Obrigada a todos que fizeram parte desta jornada!

*“Não venci todas as vezes que lutei, mas perdi todas as vezes
que deixei de lutar!”*

Cecília Meireles

RESUMO

A resistência à insulina consiste na diminuição da resposta celular e tecidual a concentrações fisiológicas do hormônio insulina. Tem sido mostrado que cogumelos podem atenuar a ocorrência de hiperglicemia e a resistência insulínica. Dentre uma grande variedade de cogumelos, os do gênero *Pleurotus* possuem várias propriedades medicinais, sendo o *Pleurotus albidus*, alvo deste estudo, uma espécie que destaca-se por ainda ter sido pouco estudada e apresentar grande potencial anti hiperglicêmico. O objetivo do presente estudo é determinar se a suplementação com extrato de *Pleurotus albidus* atenua a resistência insulínica. Foram utilizados cinco grupos experimentais sendo que o controle recebeu solução salina e os demais receberam dexametasona. Esta era administrada isolada ou com adição de tratamento e/ou suplementação de metformina, *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus albidus*. Foram utilizados testes de tolerância à glicose e insulina que mostraram que o tratamento utilizando extrato de *P. albidus* apresentou capacidade de prevenir a resistência insulínica, em camundongos C57BL/6, tratados por quarenta dias. Dados estes que mostraram uma tendência em atenuar a glicemia, de maneira mais favorável que o fármaco metformina. Neste contexto, destaca-se que o *Pleurotus albidus* apresenta potencialidade de agregar benefícios à saúde humana, essencialmente por seus efeitos antioxidantes e hipoglicemiantes.

Palavras-chave: atividade antidiabética, cogumelo, dexametasona, glicemia, insulina.

ABSTRACT

Insulin resistance consists of a decrease in the cellular and tissue response to physiological concentrations of the hormone insulin. It has been shown that mushrooms can attenuate the occurrence of hyperglycemia and insulin resistance. Among a wide variety of mushrooms, those of the genus *Pleurotus* have several medicinal properties, *Pleurotus albidus*, the target of this study, is a species that stands out for having been little studied and for having great anti-hyperglycemic potential. The aim of the present study is to determine whether supplementation with *Pleurotus albidus* extract attenuates insulin resistance. Five experimental groups were used, the control received saline solution and the others received dexamethasone. This was administered alone or with the addition of treatment and/or supplementation of metformin, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus albidus*. Glucose and insulin tolerance tests were used, which showed that the treatment using *P. albidus* extract showed the ability to prevent insulin resistance in C57BL/6 mice treated for forty days. These data showed a tendency to attenuate blood glucose, in a more favorable way than the drug metformin. In this context, it is noteworthy that *Pleurotus albidus* has the potential to add benefits to human health, essentially due to its antioxidant and hypoglycemic effects.

Keywords: Antidiabetic activity. Mushroom. Dexamethasone. Blood glucose. Insulin.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	6
2. REVISÃO DA LITERATURA	8
2.1. Resistência à Insulina	8
2.2. Cogumelos	13
2.2.1. Constituição	13
2.2.2. Produção	14
2.2.3. <i>Pleurotus</i>	15
3. HIPÓTESE	20
4. OBJETIVOS	21
4.1. Objetivo geral	21
4.2. Objetivos específicos	21
5. MATERIAIS E MÉTODOS	22
5.1. Local de realização	22
5.2. Estudo piloto	22
5.2. Extrato e tratamento com <i>Pleurotus albidus</i>	22
5.3. Extrato e tratamento com <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
5.4. Considerações éticas	24
5.5. Animais e grupos experimentais	24
5.6. Tratamentos com extratos	25
5.7. Tratamento com dexametasona	25
5.7. Tratamento com metformina	25
5.8. Teste de tolerância à glicose	25
5.9. Teste de tolerância à insulina	26
5.10. KITT	26
5.11. Eutanásia e coleta de amostras	26
5.12. Descarte de materiais biológicos e químicos	27
5.13. Análise estatística	27
6. RESULTADOS	27
6.1. Estudo piloto	27
6.2. Peso corporal	28
6.3. Análise da glicemia, TTI e KITT ao início do tratamento ($P < 0,0001$)	29
6.4. Análise final da glicemia por TTG	30
6.5. Análise da glicemia, TTI e KITT ao final do tratamento	32
7. DISCUSSÃO	33
8. CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39

1. INTRODUÇÃO

A insulina é um hormônio peptídico, sintetizado pelas células beta (β) do pâncreas, que está envolvido na regulação metabólica da glicose. No estado alimentado, a insulina promove a entrada da glicose na célula diminuindo sua concentração plasmática (SILVERTHORN, 2017). Entretanto, há uma situação onde as células do corpo desenvolvem determinada resistência ao hormônio regulador da glicemia, causando um desequilíbrio entre a quantidade de insulina produzida e a concentração de moléculas de glicose que são absorvidas pelas células. Tal distúrbio é conhecido como resistência insulínica (RI), e está associado, portanto, com a diminuição da resposta celular e tecidual a concentrações fisiológicas do hormônio insulina, incluindo tecido muscular, adiposo e hepático (YU et al., 2016).

Na RI torna-se necessário um aumento na síntese desse hormônio pelo pâncreas para contrabalançar sua menor efetividade em transportar glicose. Contudo, é sabido que existe uma tendência natural das células do corpo humano de se protegerem do excesso de insulina, tornando esta resistência cada vez maior (BROW, 2016). Por consequência desse processo, gera-se um acúmulo de glicose na corrente sanguínea, que posteriormente pode acarretar uma série de doenças como: síndrome metabólica, cardiopatias, esteatose hepática não alcoólica e o diabetes, uma das doenças crônicas mais graves da atualidade (CAPEAU, 2008).

Diversos modelos experimentais já foram testados para mimetizar os distúrbios relacionados com a função das células endócrinas do pâncreas. Dentre esses, a estreptozotocina, dieta rica em gordura e a dexametasona têm sido bastante utilizados (AL-TRAD; ALKHATEEB; ALSMADI, 2019; DE SOUZA CARDOSO, 2018). Destacamos a utilização deste último, pois os glicocorticóides são capazes de induzir alterações metabólicas como, por exemplo, o aumento dos níveis plasmáticos de glicose e insulina e, assim, induzem resistência insulínica (NOVELLI et al, 1999; BARBERA et al., 2001; SANTOS; RAFACHO; BOSQUEIRO, 2007).

Neste contexto, a utilização de cogumelos parece promissora, pois estes apresentam propriedades que podem evitar/atenuar tais efeitos deletérios, sendo uma opção adjuvante no tratamento da RI. Tal influência anti-hiperglicemiante

parece estar relacionada com o aumento da expressão do transportador de glicose (GLUT4). De fato, Kanagasabapathy e colaboradores (2012) verificaram que os cogumelos apresentam potencial anti-hiperglicemiante de forma semelhante à observada com a metformina, medicamento antidiabético clássico.

Dentre uma grande variedade de cogumelos, os do gênero *Pleurotus* têm como característica sua facilidade de crescimento em diferentes meios de cultivo, conseguindo se desenvolver em distintos substratos. Aliado a isto, possuem várias espécies comestíveis com boas qualidades gastronômicas e propriedades medicinais elucidadas (LECHNER; ALBERTÓ, 2011; PUTTARAJU et al., 2006). Ademais, em sua composição também há lovastatina, um metabólito secundário que pode ser encontrado tanto no micélio, corpo vegetativo da maioria dos fungos, como nos basidiomas, corpo de frutificação dos macrofungos (CHEN et al., 2012). Esta estatina apresenta eficácia anti-inflamatória, antioxidante e pró fibrinolítica, podendo ser usada na prevenção de síndrome coronariana aguda e aterosclerose (AARONS et al., 2007).

A espécie *Pleurotus albidus* (*P. albidus*), alvo desta pesquisa, é comumente encontrada na América do Sul, porém ainda são escassos os estudos que tratam sobre o seu cultivo e suas características nutricionais (STOFFEL et al., 2019). Sendo assim, ampliar o conhecimento sobre seu potencial bioativo torna-se fundamental.

Neste contexto destaca-se o grupo de pesquisa do Laboratório de enzimas e biomassa da Universidade de Caxias do Sul que vêm cultivando em laboratório essa espécie de cogumelo com fins científicos/medicinais (GAMBATO et al., 2018). O grupo já demonstrou que o tratamento com extrato de *P. albidus* na disfunção mitocondrial de células endoteliais (EA.hy926) reduz as espécies reativas de oxigênio, assim como os danos à lipídios e proteínas induzidos pela condição de hiperglicemia (GAMBATO et al., 2018). Estes achados parecem estar associados à atividade antioxidante de compostos fenólicos e da ergotioneína, um antioxidante com atividade *in vivo* já comprovada (DUBOST; OU; BEELMAN, 2007).

Somado a isso, o basidioma do *P. albidus* e a cultura submersa são fontes promissoras de glucanos de fácil extração, com potencialidade de agregar benefícios à saúde humana, essencialmente por seus efeitos imunomoduladores

(CASTRO-ALVES et al., 2017).

Portanto, a utilização de cogumelos para fins terapêuticos surge como um recurso a ser explorado com o intuito de atenuar a hiperglicemia e, assim, evitar/mitigar as morbidades relacionadas a essa. Neste contexto, a presente pesquisa tem como objetivo principal estudar os efeitos do extrato de uma espécie de cogumelo denominado *Pleurotus albidus* na resistência insulínica induzida pela administração de dexametasona em camundongos machos C57BL/6.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Resistência à Insulina

Grande parte das células pancreáticas tem como função a secreção exócrina relacionada com suas funções digestivas. Entretanto, em 1869 o anatomista alemão Paul Langerhans, descobriu as células endócrinas do pâncreas, que constituem aproximadamente 2% deste órgão e tem função endócrina (MONTENEGRO; CHAVES; FERNANDES, 2016).

Essa estrutura é formada por quatro tipos celulares diferentes, as células D e PP (ou F) e as células alfa (α) e beta (β). As células D são responsáveis por secretar somatostatina e as células F atuam na produção do polipeptídeo pancreático. Na porção celular α ocorrem síntese e secreção do hormônio glucagon, que no estado de jejum, período de sua predominância, promove glicogenólise, gliconeogênese e cetogênese. Por sua vez, o hormônio antagonista do glucagon é a insulina, secretada nas células β , juntamente com outro peptídeo chamado amilina (SILVERTHORN, 2017).

A insulina, sintetizada como um pró-hormônio inativo, é funcionalmente anabólica e ativada antes da sua secreção (SILVERTHORN, 2017). Essa é feita pelas células β pancreáticas principalmente no período pós-prandial, onde a glicose sanguínea encontra-se aumentada. Nas células pancreáticas o transporte de glicose é realizado predominantemente pelos transportadores de glicose 1 (GLUT1) e 3 (GLUT3). Em contraponto, se analisarmos roedores como modelo experimental, suas células β utilizam o GLUT2 como o transportador de maior ação (20). Uma vez

nas células β , a glicose aumenta a produção de adenosina trifosfato (ATP). Com isso, canais de potássio (K^+) sensíveis ao ATP se fecham hiperpolarizando às células e, em consequência disso, há influxo de cálcio (Ca^{2+}) por canais voltagem dependentes que promove a exocitose da insulina (SILVERTHORN, 2017).

Apesar de a glicose ser um estímulo de grande importância para a secreção de insulina, outros fatores podem influenciar, aumentando ou inibindo sua secreção (SILVERTHORN, 2017). A síntese proteica muscular em decorrência do estado alimentado requer um aumento na concentração tanto de aminoácidos quanto de insulina. Situações catabólicas como jejum ou deficiência de insulina, aumentam a degradação de proteínas, principalmente do músculo esquelético, devido ao armazenamento considerável de aminoácidos. Estes aumentados na circulação fornecem substratos para nova síntese proteica ou gliconeogênese no fígado (MONTENEGRO; CHAVES; FERNANDES, 2016).

Estima-se que mais de 50% de toda a secreção de insulina esteja relacionada com um hormônio chamado de polipeptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1). O GLP-1 e o peptídeo inibidor gástrico (GIP) são hormônios pertencentes à família das incretinas que, juntamente com a insulina e o glucagon, são substâncias produzidas pelo pâncreas e intestinos que agem na regulação da glicose. As incretinas circulam até as células β pancreáticas e podem alcançá-las antes mesmo da primeira absorção de glicose. Em resposta a estes hormônios é possível a liberação antecipatória da insulina, evitando um aumento repentino na glicemia plasmática diante da absorção dos alimentos. Além desses, outros hormônios gastrointestinais (GI) amplificam a secreção da insulina: colecistoquinina (CCK) e gastrina (SILVERTHORN, 2017; MCCULLOCH et al., 2011; HAVEL, 2001; MACDONALD, 2002).

Com a concentração plasmática de glicose maior do que 100 mg/dL, a insulina passa a ser estimulada e, assim como outros hormônios peptídicos, combina-se com um receptor de membrana tirosina-cinase em suas células-alvo e desencadeia uma complexa cascata de transdução de sinal intracelular (SILVERTHORN, 2017). Essa ativação promove a inserção de GLUT por exocitose na membrana plasmática das células, facilitando a internalização da glicose

(MACHADO, 1998).

Enquanto que por um lado, o aumento da secreção de insulina é estimulada pela maior atividade parassimpática, por outro lado a atividade simpática inibe essa. Em momentos de estresse, os estímulos simpáticos dão início a uma cascata de regulações no pâncreas endócrino, estímulo que é reforçado pela liberação de catecolaminas da medula da glândula supra-renal. A adrenalina e a noradrenalina inibem a secreção de insulina e desviam o metabolismo para gliconeogênese, fornecendo um abastecimento adicional para o sistema nervoso e o músculo esquelético (SILVERTHORN, 2017).

Como hormônio anabólico, a insulina está associada com a estocagem de energia. Suas funções metabólicas incluem a captação de glicose, aumento da síntese de proteínas, ácidos graxos e glicogênio, gerando menor produção hepática de glicose e inibição da lipólise (LIN et al., 2011; PETERSEN, 2018).

Com baixos níveis de insulina os transportadores estão significativamente reduzidos, permanecendo estocados no depósito perinuclear das vesículas do citosol. Já com a secreção de insulina, ocorre o transporte vesicular e inserção dos transportadores de GLUT4 na membrana. A insulina faz isso por ativar a cascata de transdução de sinal que faz as vesículas se moverem em direção a membrana celular e inserirem os transportadores GLUT4 por exocitose (JALDIN- FINCATI et al., 2017). Nos hepatócitos, o principal transportador de glicose na membrana plasmática é o GLUT2, fundamental para promover homeostasia entre a glicose citoplasmática com o meio extracelular. No estado alimentado, a enzima hexocinase é ativada pela insulina, fosforilando a glicose a glicose-6-fosfato, mantendo a glicemia intracelular mais baixa em relação à plasmática e resultando na ação reversa dos GLUT2 (CARVALHEIRA; ZECCHIN, SAAD, 2002).

As alterações funcionais da insulina são estudadas desde a década de 20. No Canadá, foi identificado que o implante de porções pancreáticas em animais diabéticos era capaz de reduzir os níveis de glicose sanguínea ocasionados pela doença. Desde então a insulina começou a ser utilizada em ensaios clínicos, chegando até o conhecimento atual sobre sua utilização na diabetes (SILVERTHORN, 2017).

Foi no final de 1930, que o conceito de resistência a insulina surgiu, diante da utilização do extrato purificado de pâncreas, administrado por pesquisadores, em indivíduos com hiperglicemia, resultando em surpreendentes variações na resposta glicêmica entre eles (HIMSWORTH, 1936). Em 1970, Berson e Yalow, definiram a resistência insulínica como um processo onde quantidades adicionais de insulina se faziam necessárias para gerar respostas fisiológicas adequadas (ELLENBERG, 1970). Posteriormente, em 1997, a Sociedade Americana de Diabetes reforçou esta definição tanto em relação à insulina endógena quanto na exógena.

Acredita-se que a resistência à insulina, em grande parte, se manifeste no nível celular, devido a falha no pós-receptor na sinalização da insulina. Os possíveis responsáveis por este processo incluem regulação negativa, deficiências ou polimorfismos genéticos da fosforilação da tirosina do receptor de insulina, proteínas substrato do receptor de insulina (IRS) ou fosfatidilinositol 3-quinase (PIP-3 quinase), ou podem envolver anormalidades da função GLUT4 (WHEATCROFT et al., 2003).

Portanto, as alterações promovidas pelo distúrbio de resistência insulínica caracterizam-se por uma ação reduzida da insulina, apesar de suas concentrações aumentadas (hiperinsulinemia). Este estado metabólico alterado pode ocorrer em condições fisiológicas e patológicas (SBD, 2018).

Já a puberdade é um período, onde fisiologicamente ocorre uma resistência à insulina transitória. Tal efeito ocorre, em parte, pela elevação dos hormônios esteróides e pelas modificações corpóreas. Com o término desta fase da adolescência, os níveis de insulina tendem a ficar semelhantes aos encontrados nas fases pré-puberal e adulta (IGHBARIYA; WEISS, 2017).

Outro momento em que se observa resistência insulínica é na gestação. Enquanto que no primeiro trimestre gestacional não se observam alterações significativas, nos demais meses de gestação se observa resistência insulínica e glicemia aumentada com o intuito de prover nutrientes necessários para o desenvolvimento do feto (GOLBERT; CAMPOS, 2008). Ainda em situações fisiológicas, diversos estudos vêm demonstrando de forma consistente que a resistência à insulina se manifesta de forma distinta entre diferentes grupos étnicos/raciais, caracterizando a necessidade de medidas específicas para cada

grupo (KRAMER; DUGAS; ROSAS, 2013; HASSON; APOVIAN, 2015).

Em situações patológicas, a resistência à insulina é reconhecida como componente de diversas doenças e alterações metabólicas como, por exemplo, as síndromes de resistência à insulina severa, de etiologia auto-imune, síndrome dos ovários policísticos, quadros de estresse fisiológico e infecção, hipertensão arterial, hiperlipidemias, além dos quadros de obesidade e diabetes (SBD, 2018).

O diabetes é um distúrbio caracterizado por hiperglicemia persistente, decorrente da deficiência da produção de insulina ou na sua regulação. O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é uma das doenças metabólicas mais comuns, há uma estimativa que 425 milhões de pessoas, mundialmente, tenham DM. Atingindo proporções alarmantes. Com as tendências atuais persistindo a projeção é que em 2045 mais de 628,6 milhões de pessoas terão diabetes. Em torno de 79% dos casos serão provenientes dos países em desenvolvimento, onde ocorrerá o maior aumento nas próximas décadas. Sendo a resistência à insulina uma das características predominantes no DM tipo 2 (SBD, 2018).

Em geral, a resistência à insulina observada na obesidade está relacionada com o aumento de ácidos graxos livres derivados de adipócitos, promovendo o acúmulo de triglicerídeos nos tecidos. O fluxo de ácidos graxos livres é maior no tecido adiposo visceral e ocorre mais naqueles indivíduos com resistência à insulina dos adipócitos. Considerando que tecido adiposo é responsável por produzir várias citocinas, a relação com a resistência insulínica pode estar relacionada com aquelas que possuem atividade pró-inflamatória. Embora existam diferenças individuais relacionadas ao aumento de adiposidade, o ganho de peso tende a ser maléfico e a perda de peso pode ser benéfica a resistência à insulina de indivíduos predispostos geneticamente (PERSEGHIN; PETERSEN; SHULMAN, 2003; JANSSON et al., 2003).

À medida que estas doenças atingem proporções alarmantes em níveis mundiais, o entendimento do papel da resistência à insulina e suas consequências tornam-se de grande relevância. A compreensão da funcionalidade da insulina em diversos processos fisiológicos e sua influência em síntese e secreção, colabora com o entendimento de suas consequências significativas em tantas doenças

crônicas (WILCOX, 2005).

2.2. Cogumelo

2.2.1. Constituição

Os fungos foram considerados vegetais por um longo período, porém, com o avanço dos estudos passaram a ter seu próprio agrupamento. Em geral, sua parede celular é composta por hexoses e hexoaminas, tendo ainda alguns que apresentam uma parede rica em polissacarídeos como a quitina e as β -glucanas (BOA, 2004; RAMPINELLI, 2009; CHEUNG, 2010).

Macrofungo ou macromiceto (do grego: macro= grande e miceto= fungo) são termos utilizados em referência aos fungos macroscópicos. Estes seres caracterizam-se como multicelulares formados por filamentos denominados hifas. O conjunto destes filamentos constitui o micélio, que por sua vez desenvolve o corpo de frutificação. Apenas 10% dos fungos estudados têm a capacidade de formar esta estrutura de frutificação, sendo ela a responsável pela reprodução dos macrofungos e onde podem ser encontrados os esporos que realizam a reprodução do tipo sexuada, sendo realizada também de maneira assexuada através da dispersão de suas partículas (PUTZKE; PUTZKE, 2004).

Três áreas principais norteiam os estudos dos macrofungos, sendo elas: ciência de cogumelos (cultivo e produção), biotecnologia (bioprocessos e produção de derivados) e biorremediação (impactos benéficos em relação ao meio ambiente) (CHANG, 2008).

Em muitos ecossistemas, os cogumelos desempenham um importante papel na decomposição da matéria orgânica, clivando celulose, hemicelulose e lignina de madeira (CHEUNG, 2010). Segundo Chang e Miles (2004) os macrofungos com corpo de frutificação suficientemente grande para serem vistos a olho nu são considerados cogumelos e podem crescer tanto acima (epígeo) quanto abaixo (hipógeo) do solo. O termo cogumelo, na realidade, é dado apenas para a estrutura de frutificação do fungo, que pode também ser chamada de basidioma (MOURA, 2008). Aqueles considerados comestíveis pertencem ao filo dos Ascomycetes e Basidiomycetes (PUTZKE; PUTZKE, 2004).

2.2.2. Produção

Mundialmente, o país que mais produz cogumelos é a China, seguido pela Itália e tendo os Estados Unidos (EUA) ocupando o terceiro lugar (FAO,2018). Na metade do século passado, com a intensa migração de chineses e japoneses, principalmente para o estado de São Paulo, a história dos cogumelos no Brasil teve seu início. Na atualidade, mais de dez mil espécies de cogumelos são conhecidas, das quais cerca de duas mil são comestíveis e vinte destas têm o cultivo para fins comerciais (ANPC, 2019).

Os cogumelos podem contribuir para a segurança alimentar associados a um desenvolvimento rural mais sustentável, pois seu cultivo não necessita de uma grande área de terra, além de ser viável tanto na zona rural quanto na urbana. Os sistemas agrícolas também podem se beneficiar indiretamente diante da reciclagem de matéria orgânica, que serve de substrato e posteriormente pode voltar a ser utilizada como fertilizante (ZHANG et al., 2012).

A utilização dos cogumelos como fonte alimentar é secular. No entanto, a procura por estas fontes aumentou nos últimos anos, podendo estar relacionada com a conscientização dos consumidores, que têm buscado hábitos alimentares mais saudáveis (REIS, 2017).

Há centenas de espécies de macrofungos comestíveis, entretanto, são poucas aquelas que são cultivadas e utilizadas como alimento (GHORAI, 2009). De acordo com Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) um cogumelo é considerado comestível quando obtido de espécies de fungos comestíveis, tradicionalmente utilizado como alimento, podendo ser dessecado, inteiro, fragmentado, moído ou em conserva, submetido a processo de secagem e/ou defumação e/ou cocção e ou/salga e/ou fermentação ou outro processo tecnológico considerado seguro para a produção de alimentos (BRASIL, 2005).

As espécies mais cultivadas comercialmente no Brasil são *Agaricus bisporus* (champignon de Paris), *Lentinula edodes* (Shiitake), *Agaricus blazei* (champignon do Brasil) e *Pleurotus* (cogumelo ostra), que ocupa a segunda posição na produção

mundial, sendo equivalente a 25% e com uma estimativa de 16% da totalidade de cogumelos *in natura* produzidos no âmbito nacional (ANPC, 2019).

Segundo dados estatísticos da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* os cogumelos estão entre os produtos com maior taxa média de crescimento anual (Tabela 1) (FAO, 2018).

Produtos	(%)
Quinoa	12,5
Gomas Naturais	11,6
Blueberries	8,2
Gengibre	8,1
Cogumelos e Trufas	7,5

Tabela 1- Produtos com maior taxa média de crescimento anual (2006-16). Adaptado de World Food and Agriculture – Statistical Pocketbook 2018

Dentro do gênero *Pleurotus* várias espécies são cultivadas, entre elas estão o *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus djamor* ou *Pleurotus ostreatus roseus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus pulmonarius* e *Pleurotus citrinopileatus*. Este gênero é conhecido popularmente como cogumelo ostra, shimejii ou hiratake, possuindo cores variadas como rosa, branco, marrom, amarelo e cinza, modificando-se de acordo com a espécie pertencente e as condições de cultivo (CHANG & MILES, 2004; URBEN, 2004).

O complexo sistema enzimático de espécies de *Pleurotus* viabiliza o seu cultivo em vários substratos ricos em lignina e celulose (palha de cereais, serragem, bagaço da cana, resíduos de algodão, além de outros resquícios agrícolas), assim como em sacos plásticos ou garrafas (ANPC, 2019; COHEN; PERSKY; HADAR, 2002).

2.2.3. *Pleurotus*

Os cogumelos do gênero *Pleurotus*, um destes macrofungos utilizados comumente como fonte alimentar, têm suas características culinárias atrativas devido ao seu teor proteico, fibras e baixa contagem lipídica. Ademais, são capazes de produzirem diversos metabólitos antioxidantes, imunoestimulantes e antimicrobianos (FINIMUNDY et al., 2013).

Mesmo com o cultivo variado do gênero *Pleurotus*, ainda há espécies pouco estudadas, em destaque encontra-se o *Pleurotus albidus* (*P. albidus*). Típico da

América do Sul, pode ser encontrado com facilidade em regiões arborizadas e úmidas, condições ideais para o seu desenvolvimento. Seu cultivo é adaptável em estado sólido (ES), gerando bom rendimento e crescimento do micélio. Em bioprocessos, o cultivo em ES é uma alternativa à produção convencional da hidrólise enzimática. Neste método, há ausência de água livre no produto, sendo necessárias condições como umidade e temperatura controladas para a eficácia no seu crescimento (DOUILLARD, 1994).

P. albidus caracteriza-se por apresentar um basidioma de 50 a 75 mm de diâmetro, com formato circular ou semicircular, carnudo, de coloração branca a esbranquiçada ou acinzentada, com superfície estriada. Apresenta um estipe de 3 a 7 mm de largura e 7 a 25 mm de comprimento, excêntrico quase lateral, cilíndrico e sutilmente fibrilar em direção a base e com esporos microscópicos (Figura 1) (KUPPERS, 2002).



Figura 1- Fotografia de Nicolás Niveiro. Retirada do site: <https://sib.gob.ar/especies/pleurotus-albidus>.

Na literatura o *P. albidus* foi relatado no Panamá (GUZMÁN, 2004; 2011), na Argentina (LECHENER; WRIGHT; ALBERTÓ, 2004), no México

(MORENO-FUENTES; BAUTISTA-NAVA, 2006) e nos EUA (ÁVALOS LÁZARO, 2016). No Brasil está entre as cinco últimas espécies conhecidas do gênero *Pleurotus* (MENOLLI; BRETERNITYZ; CAPELARI, 2014), sendo identificado na região Sul do país (PUTZKE, 2002), no estado do Amapá (SÓTÃO; LOBATO; DA SILVA, 2004) e recentemente no Amazonas (KIRSCH, 2013).

No cultivo de *P. albidus* em placa de Petri, com substrato de Agar dextrose de batata, o mesmo apresentou crescimento micelial abundante, juntamente com agregação de hifas, tendo a maioria das réplicas zoneadas. Seu desenvolvimento durante 9 dias foi o mesmo em temperaturas de 26 e 30 °C, tendo 84mm de crescimento (GARCÍA et al., 2013). Cabe salientar que em cepas das mesmas espécies de zonas temperadas, o crescimento em períodos de incubação apresentou variação de 9 até 25 dias a uma temperatura de 25 °C (SOBAL, 2007).

Diante de suas características químicas, o *P. albidus* apresentou potencial efeito na utilização de enriquecimento nutricional, através da colonização de farinhas com o cogumelo. Em comparação com a suplementação com *Agaricus blazei* e *Auricularia fuscusuccinea*, o *P. albidus* obteve maiores valores de proteína (18,34 g / 100 g), ergosterol (0,60 mg / g), biomassa micelial (183 mg / g) e aminoácidos totais (58,34 mg / g). As farinhas com *P. albidus* ainda foram mais eficazes na inibição da lipase pancreática (74,5%) e da α -glucosidase (98,2%) (STOFFEL, 2019).

Matérias primas distintas para produção do *P. albidus* foram testadas para analisar a influência do meio de cultivo no perfil antioxidante do cogumelo. Gambato et al. (2016), mostraram que a serragem de *Pinus* spp. com resíduos de maçã apresentou maior eficiência biológica ($70,40 \pm 8,61$ %). Já o cultivo em casca de arroz com resíduos de uva resultou em maior atividade antioxidante ($373,43 \pm 2,64$ mg GAE/mL de extrato e IC50% igual a 3,50 mg/mL no ensaio de DPPH) (GAMBATO et al., 2016). Em análise da composição centesimal do cogumelo *P. albidus*, também cultivado em serragem de *Pinus* spp. e farelo de trigo, foi encontrado elevado teor de fibra alimentar, proteínas e baixo conteúdo de gorduras totais, como mostrado na tabela 2 (GAMBATO et al., 2018).

Componentes	Conteúdo em (g/ 100 g)
Umidade	8,73 ± 0,03
Cinzas	5,87 ± 0,09
Proteínas	21,82 ± 0,12
Fibra Alimentar Total	42,20 ± 0,10
Gorduras Totais	3,72 ± 0,06
Carboidratos	17,63 ± 0,50

Tabela 2- Composição Centesimal do *P. albidus*. Adaptado de GAMBATO, et al., 2018

Kirsch et al. (2016) reportou pela primeira vez um estudo sobre a produção de biomassa micelial de *P. albidus* em cultivo submerso, avaliando a influência dos parâmetros físico químicos do processo. A quantidade de biomassa de maior quantidade (9,81 g/L) foi obtida através das condições a seguir: 30 g/L de sacarose, 2,5 g/L de extrato de levedura, 180 rpm de agitação e pH 7,0. De acordo com os mesmos autores, os achados deste trabalho podem servir de subsídio para a produção de biomassa micelial para consumo humano.

Outro constituinte de relevância no *P. albidus* são os polissacarídeos, conhecidos como alimentos funcionais (REIS, 2017). Este componente extraído do micélio de *P. albidus*, identificados como β - glucanas apontou um possível efeito imunomodulatório em macrófagos, regulando a síntese de óxido nítrico, TNF- α , IL-6 e a fagocitose (CASTRO-ALVES et al., 2017).

De fato, corroborando com esses achados prévios, nosso grupo identificou que o extrato de *P. albidus* apresenta potencial em promover vasodilatação, e que essa está associada com a maior atividade da enzima óxido nítrico sintase (REIS, 2019). Ademais, o extrato apresentou efeito de minimizar a lipoperoxidação, aumentar os níveis de sulfidrilas e a atividade das enzimas antioxidantes catalase e glutathione peroxidase e reduzir a atividade enzimática da fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH) em coração e artérias aorta de ratos (REIS, 2019). Com a identificação da presença de ergotioneína no extrato, sugere-se que esta molécula antioxidante possa ter contribuído nesses achados.

A utilização do extrato também mostrou potencial ação na redução do consumo alimentar e peso corporal em camundongos C57BL/6 tratados por 20 dias. Tais influências podem estar relacionadas a alguma mudança no perfil metabólico e/ou no apetite e/ou na capacidade digestiva/ absorptiva do trato gastrointestinal

(COSTA, 2020).

Tendo em vista que os cogumelos emergem com grande potencial nutracêutico e farmacológico, somado ao fato da espécie *P. albidus* ainda ser pouco estudada, mas com achados prévios promissores, salientamos a necessidade de estudos que complementem o conhecimento desta espécie para utilização adequada em diferentes distúrbios.

Considerando também que a utilização do referido extrato *in vivo*, reduziu espécies reativas de oxigênio, assim como danos a lipídios e proteínas induzidas por condições de hiperglicemia. Se faz necessário mais estudos *in vivo* para contribuir no entendimento dos mecanismos envolvidos nestas respostas.

3. HIPÓTESE

A suplementação com extrato de *Pleurotus albidus* atenua a resistência à insulina.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Determinar se a suplementação com extrato de *Pleurotus albidus* atenua a resistência insulínica.

4.2. Objetivos específicos

- I- Determinar qual a dose e o tempo de tratamento mais indicados para indução de resistência insulínica com dexametasona em camundongos;
- II- Comparar o peso inicial com o peso final após administração do extrato;
- III- Avaliar a influência do extrato de *P. albidus* sobre a tolerância à glicose;
- IV- Analisar a influência do extrato de *P. albidus* sobre a sensibilidade insulínica;
- V- Comparar a utilização do *P. albidus* com o extrato de *P. ostreatus* e metformina.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. 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.

5.2. Estudo piloto

Doze camundongos machos, C57BL/6, foram utilizados para realização do estudo que durou 14 dias. O grupo controle recebeu solução salina e os outros dois grupos foram tratados com dexametasona através de injeção intraperitoneal (i.p.). A divisão dos animais foi feita nos seguintes grupos experimentais :

- I. Controle;
- II. 1 mg/Kg;
- III. 100 mg/Kg.

No 7º e 14º dia estes animais foram submetidos a teste de tolerância à insulina (TTI), por meio da aplicação (i.p.) de insulina (0,5 U/kg de peso corporal), após 4 horas de jejum. O sangue foi coletado por um corte na ponta da cauda nos seguintes tempos: 0, 5 e 25. Para mensuração da glicemia foi utilizado o glicosímetro (AccuChek Active, Roche Diagnostics®, USA) e qualquer sangramento residual foi interrompido pela aplicação de uma leve pressão com uma esponja de gaze no local da punção.

Com a finalização do teste realizado no 14º dia, os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por decapitação.

5.3. Extrato de *Pleurotus albidus*

Foi utilizada a linhagem 82F.7 de *Pleurotus albidus* (MIUCS 1580), pertencente à coleção de microrganismos do Laboratório de Enzimas e Biomassas da Universidade de Caxias do Sul/RS que estão depositadas na seção micológica do Herbário da Universidade de Caxias do Sul (UCS/MUSIC) (OSÓRIO; WASUM; DILLON, 2016).

Os basidiomas foram cultivados em sacos de polipropileno, contendo 1,5 kg de meio de cultivo. Primeiramente, os sacos foram inoculados com todo o conteúdo de placas de Petri com micélio do fungo previamente crescido, sendo posteriormente armazenados em local com temperatura controlada (28 °C). Quando observada colonização total do meio de cultivo e presença de primórdios de basidiomas, os sacos foram perfurados com bisturi e levados para estufa em temperatura ambiente (entre 20 e 30 °C) e umidade relativa do ar entre 70 a 90% (GAMBATO, 2016).

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.

5.4. Extrato de *Pleurotus ostreatus*

Foi utilizada a linhagem pertencente a coleção da empresa Fungi Brasilis - Biguaçu - SC sob denominação #90 de *Pleurotus 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 CaCo₃. Primeiramente, o capim será 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 então foi incubado por 30 dias a 25° e após a colonização foi aberto, 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. 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 e evaporada em um evaporador rotativo (modelo 803, Fisatom). O resíduo insolúvel

em etanol 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 fosse obtido (GAMBATO et al., 2018).

5.5. Considerações éticas

O projeto foi submetido à Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA/UFPel) e recebeu parecer favorável para sua execução (CEEA 5570-2020).

Todos os procedimentos deste estudo estão de acordo com a Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008, que estabelece normas para a Prática Didático-Científica da Vivisseção de animais; dos Princípios Éticos na Experimentação Animal, formulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal; assim como aquelas contidas nos Princípios Internacionais Orientadores para a pesquisa Biomédica envolvendo Animais provenientes do *Council for International Organizations of Medical Sciences* (CIOMS) (GOLDIM, 2002).

5.6. Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 32 camundongos machos, da linhagem C57BL/6, com aproximadamente 60 dias, provenientes do Biotério do Campus Capão do Leão da UFPel. Estes foram divididos nos seguintes grupos experimentais:

- I- Grupo controle (C): camundongos tratados com veículo;
- II- Grupo dexametasona (DEXA): camundongos tratados com veículo e induzidos a resistência insulínica com dexametasona;
- III- Grupo Metformina (MET/DEXA): camundongos tratados com metformina (40mg/kg) e induzidos a resistência insulínica por dexametasona;
- IV- Grupo *Pleurotus albidus* 1000 mg/kg (*P. albidus*/DEXA): camundongos tratados com 1000 mg/kg do extrato de *Pleurotus albidus* e induzidos a resistência insulínica com dexametasona;
- V- Grupo *Pleurotus ostreatus* 1000 mg/kg (*P. ostreatus*/DEXA): camundongos tratados com 1000 mg/kg do extrato de *Pleurotus albidus* e induzidos a resistência insulínica com dexametasona;

Os animais ficaram 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 500 mL, rolha cônica de borracha e bico de aço inoxidável reto. O assoalho era 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). Os animais receberam ração e água *ad libitum* e tiveram o peso avaliado uma vez por semana.

5.7. Tratamento com Extratos de *P. albidus* e *P. ostreatus*

Os extratos de *P. albidus* e *P. ostreatus* foram liofilizados e diluídos em água destilada e administrados 1 vez por dia (entre 7- 8h) por via intragástrica (XIONG et al., 2018). Os animais do grupo I e II passaram pelo mesmo procedimento, porém receberam apenas solução salina no mesmo volume. A suplementação foi realizada por 40 dias ininterruptos.

5.8. Tratamento com dexametasona

A indução da resistência insulínica foi realizada pelo tratamento com dexametasona (100 mg/kg de peso corporal) por injeções diárias (entre 7-8h) via (i.p.) nos últimos 7 dias experimentais, do 34° ao 40° dia (WEGO et al., 2019).

5.9. Tratamento com metformina

A metformina (40 mg/Kg) foi administrada por via intragástrica diariamente (entre 7-8h), durante 40 dias.

5.10. Teste de tolerância à glicose (TTG)

Após jejum de 4 horas, foi administrado uma solução de D-glicose (2g/kg de peso) (i.p) e a glicemia mensurada nos tempos: 0, 15, 30, 60 e 120 minutos (BENNIS et al., 2017).

Para isso, os camundongos foram contidos em um limitador de caixa, suas caudas foram seguradas entre o polegar e o dedo indicador para perfuração da veia

caudal usando uma lâmina.

Para mensuração da glicemia foi utilizado o glicosímetro (AccuChek Active, Roche Diagnostics®, USA) e qualquer sangramento residual foi interrompido pela aplicação de uma leve pressão com uma esponja de gaze no local da punção. Após esse procedimento, os camundongos foram devolvidos às suas gaiolas.

5.11. Teste de tolerância à insulina (TTI)

O teste TTI foi realizado no 41º dia, por meio da aplicação de uma injeção intraperitoneal de insulina (0,5 U/kg de peso corporal) após 4 horas de jejum. O sangue foi coletado por um corte na ponta da cauda nos seguintes tempos: 0, 5, 20, 35 e 60 minutos após a injeção de insulina. Para mensuração da glicemia foi utilizado o glicosímetro (AccuChek Active, Roche Diagnostics®, USA) e qualquer sangramento residual foi interrompido pela aplicação de uma leve pressão com uma esponja de gaze no local da punção.

5.12. Constante de decaimento da glicemia (KITT)

A constante de decaimento da glicemia foi calculada pela variação glicêmica relativa entre os tempos 5 e 20 minutos do TTI segundo previamente descrito por BONORA et al. (1989).

5.13. Eutanásia e coleta de amostras

Vinte e quatro horas após a realização dos testes de TTG, no 41º dia experimental, com a finalização do TTI, os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por exsanguinação cardíaca.

Imediatamente após a eutanásia os tecidos (do coração, fígado e gastrocnêmio) foram coletados. Um dos lobos do tecido hepático, de cada animal, está imerso em formol a 10% para as análises morfológicas. Os demais tecidos ficarão armazenados em freezer -80°C para análises bioquímicas, que serão feitas posteriormente, complementando os achados adquiridos até o presente momento.

5.14. 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.

5.15. Análise estatística

Os dados foram apresentados como média \pm EPM. Foi utilizado ANOVA de 2 vias, seguido do teste complementar de Bonferroni. Foi aceito como significativo os resultados com $P < 0,05$. Nos resultados do teste piloto, para o KITT, foi utilizada ANOVA de 1 via.

6. RESULTADOS

6.1. Estudo Piloto

A figura 2 e 3 mostram os resultados do estudo piloto realizado para indução da resistência insulínica em camundongos utilizando o tratamento com dexametasona.

Utilizamos o TTI como parâmetro para análise da resistência insulínica e determinação da dose e tempo a serem utilizados. O grupo tratado com dexametasona na dose de 100 mg/kg mostrou menor decaimento da glicemia no TTI em ambos os tempos de tratamento (7 e 14 dias) em relação ao grupo controle. Já o grupo tratado com dexametasona na menor dose (1 mg/kg), apresentou perfil semelhante ao controle após 7 dias de tratamento, passando para perfil próximo ao grupo com a maior dose aos 14 dias. Embora tenhamos observado essas tendências, os resultados não foram estatisticamente significativos.

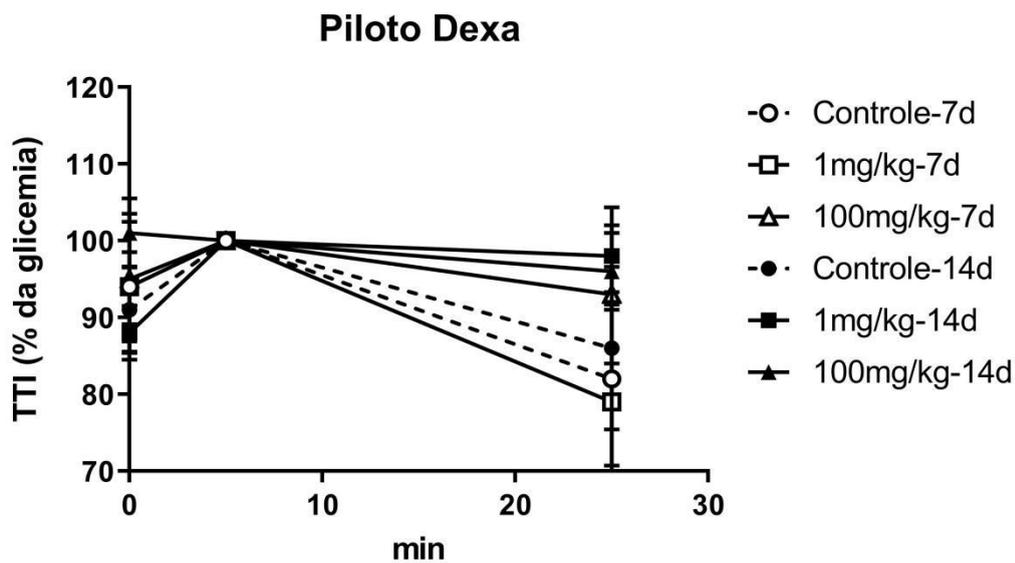


Figura 2- Teste de tolerância à insulina (TTI) entre as doses de indução por dexametasona

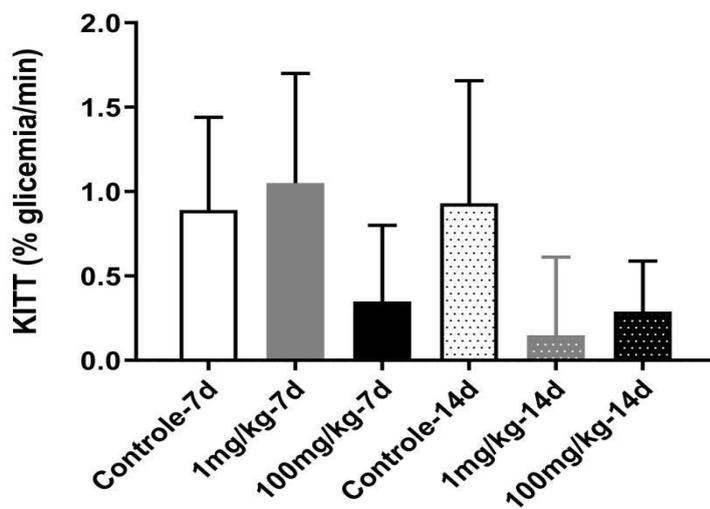


Figura 3- Constante de decaimento de glicemia (KITT) do estudo piloto

6.2. Peso corporal

A figura 4 mostra o peso corporal ao longo de 5 semanas experimentais. Esse foi semelhante entre os animais no início do estudo e não apresentou variações significativas ao longo do período experimental.

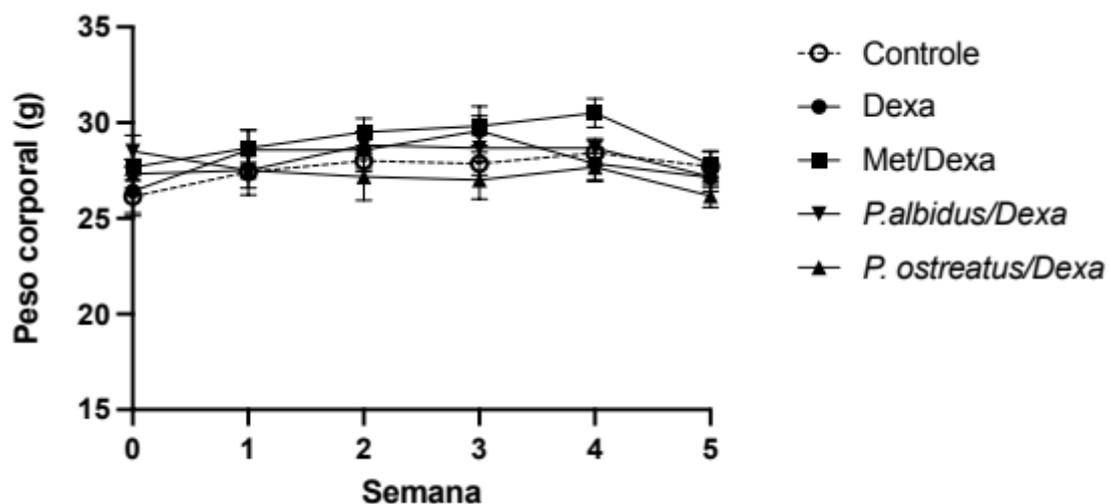


Figura 4 - Variação do peso corporal entre es os grupo

6.3. Análise da glicemia, TTI e KITT ao início do tratamento com cogumelos e metformina ($P < 0,0001$)

Todos os animais foram avaliados antes do início do protocolo experimental para obtenção de parâmetros basais da glicemia, da sensibilidade à insulina e do índice de decaimento da insulina. A média da glicemia dos 32 animais foi de 97 ± 14 mg/dL. A figura 5 mostra, como esperado, um decaimento significativo da glicemia 20 minutos após a administração da insulina. O KITT foi de $1,04 \pm 0,87$ glicose

sanguínea/min.

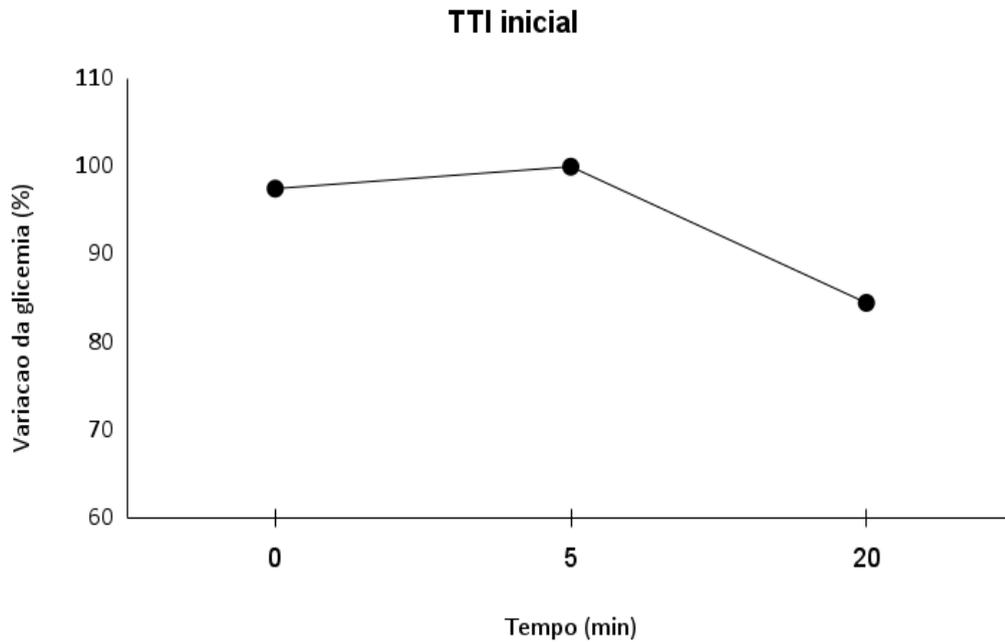


Figura 5- Constante do decaimento de glicose antes do início dos tratamentos

6.4. Análise final da glicemia por TTG

A figura 6 mostra o TTG avaliado ao final do período experimental. Foi observada uma redução significativa na glicemia do grupo Dexa quando comparados os tempos 30 e 120 minutos.

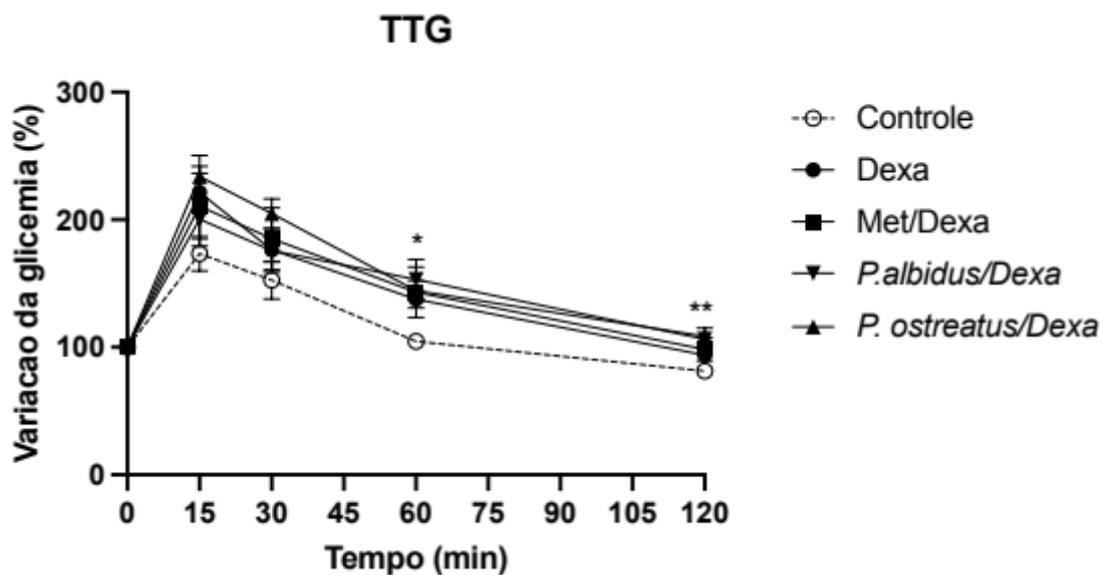


Figura 6- Variação glicêmica no teste de tolerância à glicose após tratamentos

De forma semelhante, o grupo *P. ostreatus* apresentou redução na glicemia entre os tempos 30 e 60 minutos. Já a área sob a curva, foi significativamente maior em todos os grupos experimentais em relação ao controle, não sendo diferente entre os distintos tratamentos (Figura 7).

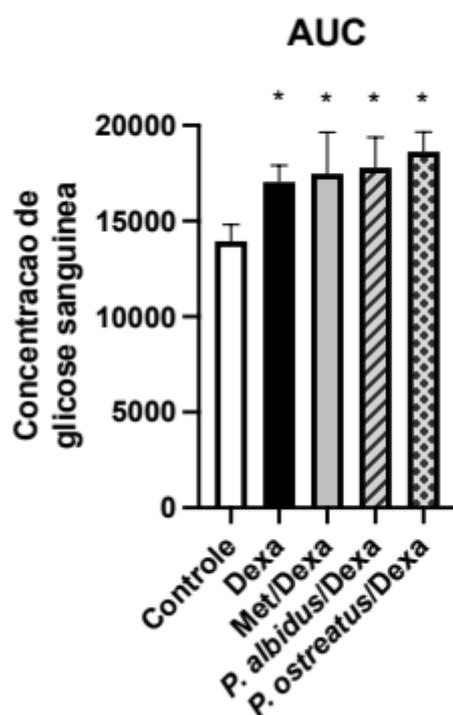


Figura 7- Concentração de glicose após teste de tolerância à glicose

6.5. Análise da glicemia, TTI e KITT ao final do tratamento

Ao final do período experimental, a glicemia média foi de 99 ± 14 mg/dL, não apresentando diferenças significativas em relação a glicemia inicial e entre os respectivos grupos experimentais (Figura 8).

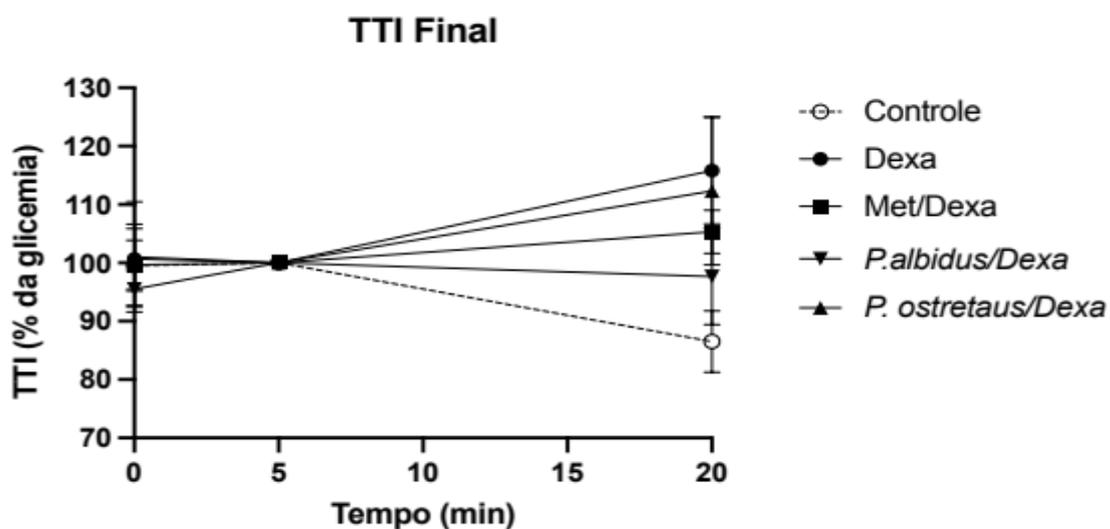


Figura 8- Variação da glicemia no teste de tolerância a insulina após tratamentos

A sensibilidade à insulina no grupo controle no final do período experimental foi semelhante a inicial, apresentando decaimento da glicemia de aproximadamente 14% entre os tempos 5 e 20 minutos. Diferentemente do controle, embora não de forma significativa, os grupos tratados com dexametasona não apresentaram queda da glicemia após administração de insulina no TTI, dado reforçado pela variação negativa do KITT no grupo Dexa (Figura 9). A suplementação com metformina atenuou parcialmente essa resposta, enquanto que o grupo *P. albidus* mostrou tendência em prevenir a resistência insulínica.

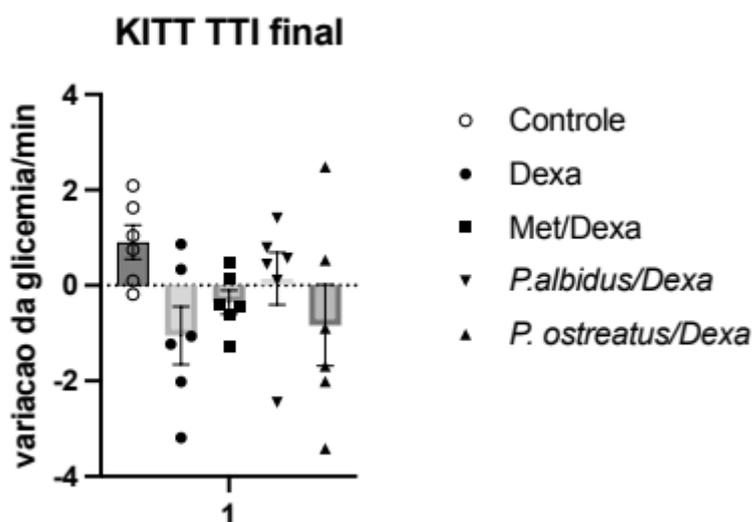


Figura 9- Variação na constante de decaimento de glicemia (KITT) após tratamentos e suplementação

7. DISCUSSÃO

A suplementação com *P. albidus*, embora não de forma significativa, apresentou potencial em prevenir a resistência insulínica induzida pela dexametasona. Esse grupo teve maior decaimento da glicose após receber insulina para realização do TTI, apresentando valores mais próximos ao controle. Não temos conhecimento até o presente momento de estudos prévios que tenham avaliado o potencial *in vivo* do cogumelo *P. albidus* em modelos de resistência insulínica

Modelos animais para indução de injúria podem apresentar variações dependendo da espécie, gênero, idade, metabolismo, etc. O modelo de resistência insulínica induzida com dexametasona tem sido desenvolvido preferencialmente em ratos Wistar (NOVELLI et al., 1999; BARBERA et al., 2001; SANTOS; RAFACHO & BOSQUEIRO, 2007; DOS SANTOS ARAÚJO et al., 2021). No entanto, camundongos se apresentam como roedores de manejo mais fácil e barato, além das inúmeras possibilidades de tratamentos com substâncias de alto valor e/ou em modelos de animais *knockout*. A adaptação do modelo de RI com dexametasona em camundongos já foi testada previamente (GUPTA et al., 2019; GHASAS et al., 2015; TIAN et al. 2015). No entanto, há grande variação nas dosagens (1 mg/kg - 100 mg/kg) e tempo de tratamento (5 - 17 dias). Tal discrepância motivou a necessidade de um estudo piloto para determinação da dosagem e tempo de tratamento para testar os objetivos propostos. Ao verificarmos que a menor dose (1mg/kg) de dexametasona não diferiu da maior dose (100mg/kg) no teste de TTI em tempos superiores a 7 dias, essa foi escolhida para indução da RI em nosso estudo.

Outro ponto de relevância, é que os animais utilizados nesta pesquisa não apresentaram redução no peso corporal em nenhum dos tratamentos. Mesmo recebendo o dobro da dose utilizada previamente, em estudo *in vivo*, com extrato de *P. albidus* (COSTA et al., 2020). Resultados opostos também foram encontrados por Deepalakshmi et al. (2014) onde o extrato de *P. ostreatus* nas doses de 250, 500 e 1000 mg/Kg resultaram em aumento de peso em todos os grupos, mesmo que não significativamente. Mas diante destas respostas vale enaltecer a idade dos animais, pois os mesmos tinham em torno de 6 semanas de idade e com isso foi possível avaliar que não houve nenhuma ação desfavorável no crescimento destes animais. Além disso, o mesmo trabalho realizou a observação morfológica em órgãos vitais, como o fígado, e indicou que não havia sinal de qualquer inflamação ou toxicidade tanto no controle quanto nos grupos tratados com *P. ostreatus*.

Ainda sobre o peso corporal, vale considerar que no presente estudo a indução a resistência insulínica começou a ocorrer da 4^a para a 5^a semana de tratamento. Em relação a este mesmo período, todos os grupos tiveram redução de

peso quando comparados com o grupo controle, exceto no grupo metformina. Este resultado vem de encontro ao achado de (REF) onde o extrato de *ostreatus* produziu atenuação significativa na composição do peso corporal após 4 semanas de tratamento, quando comparados com o grupo controle.

Achados de Ng et al. (2015), onde ratos foram induzidos a diabetes com administração única de 40 mg/kg de estreptozotocina, por i.p, o grupo metformina apresentou incremento de peso corporal; enquanto isso, os grupos de controle e tratamento com extrato de *Pleurotus sajor- caju* (PSC) apresentaram degradação gradual do peso corporal ao longo do estudo. O peso corporal do grupo tratado com extrato de PSC apresentou degradação significativa a cada 7 dias, com degradação de 7,1% após 21 dias de tratamento. Em comparação com todos os grupos, o grupo diabético tratado com extrato de PSC não relatou diferença significativa em relação ao grupo diabético controle após 7 e 14 dias de tratamento com extrato. No entanto, houve diferença significativa detectada entre os grupos controle e tratado com extrato de PSC após 21 dias de tratamento. Os resultados indicaram que o tratamento de 21 dias com extrato de PSC manteve o peso corporal dos ratos que foi reduzido inicialmente.

As respostas em relação ao peso corporal citadas no presente estudo, evidenciam que a suplementação com os extratos de *P. albidus* e *ostreatus*, juntamente com o grupo dexametasona tiveram tendência a redução no peso em comparação com o tratamento com metformina, durante o processo de indução a resistência à insulina. Corroborando com trabalho realizado por WEGO et al. (2019), onde a opção de suplementação foi o extrato aquoso da casca do caule de *Baillonella toxisperma*, e no estudo mencionado a dexametasona reduziu significativamente o peso corporal de ratos após 8 dias de administração, exceto em ratos tratados com metformina.

Para avaliação da curva glicêmica, os animais foram submetidos a testes de tolerância à insulina (TTI) e de tolerância à glicose, este último foi realizado por via intraperitoneal, corroborando com a metodologia empregada por BENNIS et al (2017) e GARCIA et al. (2019), em contrapartida XIONG, et al. (2017) e NG et al.

2015. utilizaram o teste oral de tolerância à glicose. Outro aspecto que difere dos métodos utilizados no presente trabalho é o período de jejum que antecede os testes de avaliação glicêmica e de insulina, visto que o intervalo escolhido foi de 4h, em turno matutino, e estudos têm utilizado de 12 a 16h de jejum noturno (XIONG, et al. 2017; GARCIA et al., 2019; GHASAS et al., 2009). Sendo importante salientar as características do ciclo circadiano de roedores, que apresentam hábitos noturnos, podendo então o período escolhido por nós, ter influenciado nos valores de glicemia dos testes empregados. Todavia, a recomendação dos comitês de ética em experimentação animal seja contrária a este longo intervalo de abstinência alimentar.

No presente trabalho a escolha do teste de tolerância por via intraperitoneal foi utilizada visando uma resposta fisiológica mais rápida sobre os aspectos de absorção da glicose no teste empregado. Embora os achados em relação a glicemia não tenham sido significativos, vão de encontro com dados encontrados anteriormente, no que tange a ação hipoglicemiante de diversos cogumelos, que em grande maioria estão relacionados com a capacidade inibitória de enzimas, como a α -amilase e α -glicosidase (PAPOUTSIS et al., 2021, CHEN et al., 2017, WU et al., 2014, SU et al., 2013).

Tem sido relatado que células expostas a altos níveis de glicose, afetam atividades do complexo da cadeia de transporte de elétrons. Avaliação *in vitro*, com células endoteliais *EA.hy926*, mostrou que o *P. albidus*, apresentou declínio da atividade do complexo I na cadeia transportadora de elétrons, minimizando o dano oxidativo induzido pela hiperglicemia. Fato este relacionado a importante atividade antioxidante devido a presença de compostos fenólicos e ergotioneína, que foram encontrados em níveis superiores aos observados para outro cogumelo do mesmo gênero, *P. eryngii* (GAMBATO et al., 2018; REIS et al., 2012).

Castro- Alves e colaboradores (2017) verificaram que os polissacarídeos α e β -glucanos, encontrados no *P. albidus* tem efeito imunomodulatório em macrófagos, agindo na regulação da produção de óxido nítrico, fatores de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e a fagocitose. A compreensão destes componentes

avaliados podem justificar os resultados encontrados por nós na redução glicêmica dos animais tratados com o referido extrato.

Além dos mecanismos expostos para ação hipoglicemiante dos cogumelos devemos destacar a estimulação da secreção insulínica pelas células β 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 da glicogênio sintase quinase 3 (GSK-3), principalmente na dose de 400mg/kg (ZHANG et al., 2016).

Estudo prévio e pioneiro realizado com *P. albidus in vivo*, mostrou que o extrato desse cogumelo não influenciou significativamente a glicemia de camundongos C57BL/6 saudáveis, tratados durante 20 dias com a dose de 500mg/kg (COSTA et al., 2020). Porém, os mesmos autores mostraram influência no consumo alimentar e peso dos animais.

Contudo, cabe reforçar que os autores mencionados anteriormente, utilizaram animais saudáveis, e que no presente estudo houve a mimetização de um processo de resistência insulínica e nesta situação os níveis de queda glicêmica foram melhores no grupo *P. albidus*, inclusive quando comparados com o grupo metformina, e o extrato de *P. ostreatus*, com potencial hipoglicemiante evidenciado (XIONG et al., 2018; ZHANG et al., 2016; SCHNEIDER et al., 2011) mostrando que o número de animais utilizados pode ter influenciado na significância dos achados.

Relevante questão a ser considerada é que a opção de utilização do extrato foi a nível suplementar, visto que os animais receberam o *P. albidus* antes de estarem em processo de resistência insulínica, algo que nos trouxe respostas que enalteceram o potencial de sua utilização prévia sobre os efeitos do aparecimento da RI. Contrapondo estudo que induziu ratos durante 8 semanas, com injeção intraperitoneal de dexametasona, na dose de 1 mg/kg, por 5 dias. E só iniciando com o pó de micélio de *Antrodia cinnamomea*, quando os níveis de glicose plasmática, em jejum, estiveram superiores a 150 mg/dl (CHUNG et al., 2018).

8. Conclusão

Quanto ao peso corporal não foi encontrada diferença entre a avaliação inicial e aquela realizada com a finalização dos tratamentos e suplementação. E isto ocorreu em todos os grupos analisados. Saliendo a necessidade de mais estudos que nos auxiliem no entendimento desta questão.

Entretanto, resultados encontrados por nós foram importantes para confirmarmos a tendência do extrato de *P. albidus* na resistência à insulina *in vivo*. Embora não tenhamos encontrado resultados significativos, o referido extrato mostrou maior decaimento de insulina quando submetido a teste de tolerância à insulina, mesmo quando comparado com o extrato de *P. ostreatus*, cogumelo com atividade hipoglicemiante já estudada e o fármaco metformina, usado comumente com esta ação. O que nos dá embasamento para seguir com análises adicionais que favoreçam ainda mais a compreensão dos mecanismos envolvidos com os achados encontrados no presente trabalho.

8. REFERÊNCIAS

ANPC - Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos:
<https://www.anpccogumelos.org/manuais>.

AL-TRAD, Bahaa et al. Eugenol ameliorates insulin resistance, oxidative stress and inflammation in high fat-diet/streptozotocin-induced diabetic rat. **Life sciences**, v. 216, p. 183-188, 2019.

AMAZON, CHARACTERIZATION OF EDIBLE MUSHROOM FROM; FOREST, RAIN. Produção em matriz sólida e caracterização parcial das proteases de cogumelo comestível da Floresta Amazônica. **Revista Brasileira de Tecnologia**, v. 8, n. 01, p. 1227-1236, 2014.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Consensus development conference on insulin resistance: 5–6 November 1997. 1998.

ÁVALOS LÁZARO, Abisag Antonieta et al. Hongos clavarioides (Agaricomycetes) de Tabasco: diversidad del Parque Estatal Agua Blanca. **Revista mexicana de micología**, v. 43, p. 19-28, 2016.

AARONS, Cary B. et al. Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) decrease postoperative adhesions by increasing peritoneal fibrinolytic activity. **Annals of surgery**, v. 245, n. 2, p. 176, 2007.

BOA, Eric R. Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. 2004.

BALDO, G. et al. Bone marrow cells reduce collagen deposition in the rat model of common bile duct ligation. **J Cell Sci Ther**, v. 2, n. 112, p. 2, 2011.

GOLDIN. Bioética - Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/bioetica/>>. Acesso em: 18 dez. 2019.

BROWN, Audrey E.; WALKER, Mark. Genetics of insulin resistance and the metabolic syndrome. **Current cardiology reports**, v. 18, n. 8, p. 1-8, 2016.

BRASIL (2005). Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n. 272, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento técnico para produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, n. 184, seção 1, Brasília, DF, 23 set. 2005. p 384. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_272_2005_.pdf/40ddb30-4939-403e-a9d1-fbab47ffc5bb

CARRASCO-GONZÁLEZ, Jorge Alberto; SERNA-SALDÍVAR, Sergio O.; GUTIÉRREZ-URIBE, Janet A. Nutritional composition and nutraceutical properties of the Pleurotus fruiting bodies: Potential use as food ingredient. **Journal of Food**

Composition and Analysis, v. 58, p. 69-81, 2017.

CAPEAU, J. Insulin resistance and steatosis in humans. **Diabetes & metabolism**, v. 34, n. 6, p. 649-657, 2008.

CASTRO-ALVES, Victor Costa et al. Characterization and immunomodulatory effects of glucans from *Pleurotus albidus*, a promising species of mushroom for farming and biomass production. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 215-223, 2017.

CARVALHEIRA, José BC; ZECCHIN, Henrique G.; SAAD, Mario JA. Vias de sinalização da insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 4, p. 419-425, 2002.

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

CHANG, Shu-Ting. Overview of mushroom cultivation and utilization as functional foods. **Mushrooms as functional foods**, v. 260, 2008.

CHEN, Shin-Yu et al. Contents of lovastatin, γ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. **Lwt**, v. 47, n. 2, p. 274-278, 2012.

CHEUNG, P. C. K. The nutritional and health benefits of mushrooms. **Nutrition Bulletin**, v. 35, n. 4, p. 292-299, 2010.

COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 58, n. 5, p. 582-594, 2002.

COSTA, Paola Quevedo. Influência do Tratamento com Extrato de *Pleurotus albidus* na regulação da glicemia de camundongos c57bl/6 sadios. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas. Trabalho de Conclusão de Curso em Nutrição.

DOUILLARD, Roger; MATHAN, O. de. Leaf protein for food use: potential of rubisco. In: **New and developing sources of food proteins**. Springer, Boston, MA, 1994. p. 307-342.

DUBOST, N. Joy; OU, Boxin; BEELMAN, Robert B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 105, n. 2, p. 727-735, 2007.

ELLENBERG, Max. Diabetes mellitus: theory and practice. In: **Diabetes mellitus: theory and practice**. 1970. p. 1007-1007.

FAO. 2018. WORLD FOOD AND AGRICULTURE – STATISTICAL POCKETBOOK 2018. Rome. 254 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

<http://www.fao.org/3/CA1796EN/ca1796en.pdf>

FINIMUNDY, T. C. et al. Aqueous extracts of Lentinula edodes and Pleurotus sajor-caju exhibit high antioxidant capability and promising in vitro antitumor activity. **Nutrition Research**, v. 33, n. 1, p. 76-84, 2013.

Food and Agriculture Organization of the United Nations:
<https://www.fao.org/brasil/pt/>

GAMBATO, Gabriela et al. Evaluation of productivity and antioxidant profile of solid-state cultivated macrofungi Pleurotus albidus and Pycnoporus sanguineus. **Bioresource Technology**, v. 207, p. 46-51, 2016.

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

GARCÍA, Silvia Cappello et al. CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO MICELIAL in vitro DE Pleurotus albidus PEGLER 1983 Y Pleurotus djamor BOEDIJIN 1959, EN TABASCO, MÉXICO. **Kuxulkab'**, v. 19, n. 37, 2013.

GIAVASIS, Ioannis. Bioactive fungal polysaccharides as potential functional ingredients in food and nutraceuticals. **Current opinion in biotechnology**, v. 26, p. 162-173, 2014.

GOLBERT, Airton; CAMPOS, Maria Amélia A. Diabetes melito tipo 1 e gestação. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, p. 307-314, 2008.

GHORAI, Shakuntala et al. Fungal biotechnology in food and feed processing. **Food research international**, v. 42, n. 5-6, p. 577-587, 2009.

GUZMÁN, Gastón. Los hongos de El Edén Quintana Roo: introducción a la microbiota tropical de México. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, n. 5, p. 282-282, 2004.

GUZMÁN, Gastón; PIEPENBRING, Meike. **Los hongos de Panamá: introducción a la identificación de los macroscópicos**. Xalapa: Instituto de Ecología, AC, 2011.

HAVEL, Peter J. Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis. **Experimental Biology and Medicine**, v. 226, n. 11, p. 963-977, 2001.

HASSON, Brooke R.; APOVIAN, Caroline; ISTFAN, Nawfal. Racial/ethnic differences in insulin resistance and beta cell function: relationship to racial disparities in type 2 diabetes among African Americans versus Caucasians. **Current Obesity Reports**, v. 4, n. 2, p.241-249,2015.

HIMSWORTH, Harold Percival et al. Diabetes mellitus. Its differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types. **Lancet**, v. 230, p. 127-130, 1936.

IGHBARIYA, Ahmad; WEISS, Ram. Insulin resistance, prediabetes, metabolic syndrome: what should every pediatrician know?. **Journal of clinical research in**

pediatric endocrinology, v. 9, n. Suppl 2, p. 49, 2017.

JALDIN-FINCATI, Javier R. et al. Update on GLUT4 vesicle traffic: a cornerstone of insulin action. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 28, n. 8, p. 597-611, 2017.

JANSSON, Per-Anders et al. A novel cellular marker of insulin resistance and early atherosclerosis in humans is related to impaired fat cell differentiation and low adiponectin. **The FASEB Journal**, v. 17, n. 11, p. 1434-1440, 2003.

KANAGASABAPATHY, Gowri et al. 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 Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2012.

KRAMER, Holly; DUGAS, Lara; ROSAS, Sylvia E. Race and the insulin resistance syndrome. In: **Seminars in nephrology**. WB Saunders, 2013. p. 457-467.

KIRSCH, Larissa de Souza et al. Produção da biomassa de *Pleurotus albidus* por fermentação submersa para elaboração de barras de cereais. 2013.

KIRSCH, Larissa de Souza; MACEDO, Ana Júlia Porto de; TEIXEIRA, Maria Francisca Simas. Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom *Pleurotus albidus*. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, p. 658-664, 2016.

KUPPERS H. Atlas de los colores. Barcelona: Blume; 2002. **Fungorum**, n. 22, p. 41-47, 2006.

LECHNER, Bernardo E.; WRIGHT, Jorge E.; ALBERTÓ, Edgardo. The genus *Pleurotus* in Argentina. **Mycologia**, v. 96, n. 4, p. 845-858, 2004

LECHNER, Bernardo E.; ALBERTÓ, Edgardo. Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields. *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushroom production. **Revista Iberoamericana de micología**, v. 28, n. 4, p. 148-154, 2011.

LIN, Hua V. et al. Diabetes in mice with selective impairment of insulin action in Glut4-expressing tissues. **Diabetes**, v. 60, n. 3, p. 700-709, 2011.

MACDONALD, Michael J. Differences between mouse and rat pancreatic islets: succinate responsiveness, malic enzyme, and anaplerosis. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 283, n. 2, p. E302-E310, 2002.

MACHADO, Ubiratan Fabres. Transportadores de glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 42, p. 413-421, 1998.

MCCULLOCH, Laura J. et al. GLUT2 (SLC2A2) is not the principal glucose transporter in human pancreatic beta cells: implications for understanding genetic association signals at this locus. **Molecular genetics and metabolism**, v. 104, n. 4,

p. 648-653, 2011.

MONTENEGRO JR, Renan; CHAVES, Mariana; FERNANDES, Virginia. Fisiologia pancreática: Pâncreas endócrino. 2016.

MORENO-FUENTES, Ángel; BAUTISTA-NAVA, Efraín. El “hongo blanco patón”, *Pleurotus albidus*, en Hidalgo. Su primer registro en México. **Scientia**

MOURA, P. Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons. **São Paulo: Autarquida associada à Universidade de São Paulo**, 2008.

MENOLLI JR, Nelson; BRETERNITZ, Bruna Suellen; CAPELARI, Marina. The genus *Pleurotus* in Brazil: a molecular and taxonomic overview. **Mycoscience**, v. 55, n. 5, p. 378-389, 2014.

NOVELLI, Michela et al. Insufficient adaptive capability of pancreatic endocrine function in dexamethasone-treated ageing rats. **Journal of endocrinology**, v. 162, n. 3, p. 425-432, 1999.

OSÓRIO et al. Macrofungos (Filo Basidiomycota) do Sul do Brasil Levantamento e Verificação da Capacidade de Secreção de Enzimas Ligninolíticas [Internet]. 2016 [citado 19 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:101:1-201606188821>

PAIM, Mariana Parron. Influência do Tratamento com Extrato de *Pleurotus albidus* nos níveis lipídicos de camundongos C57bL/6 saudáveis. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas. Trabalho de Conclusão de Curso em Nutrição.

PAPOUTSIS, Konstantinos et al. Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A Review. **Food Chemistry**, v. 338, p. 128119, 2021.

PUTZKE, J. Myxomycetes na região Sul do Brasil. **Biodiversidade, conservação e uso sustentável da flora do Brasil**, p. 221-223, 2002.

PERSEGHIN, G.; PETERSEN, K.; SHULMAN, G. I. Cellular mechanism of insulin resistance: potential links with inflammation. **International Journal of Obesity**, v. 27, n. 3, p. S6-S11, 2003.

PETERSEN, Max C.; SHULMAN, Gerald I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. **Physiological reviews**, v. 98, n. 4, p. 2133-2223, 2018.

PUTZKE, Jair; PUTZKE, Marisa Terezinha Lopes. **Os reinos dos fungos**. Edunisc, 2004.

RAFACHO et al., Functional Alterations in Endocrine Pancreas of Rats With Different Degrees of Dexamethasone-Induced Insulin Resistance: Pancreas. abril de 2008;36(3):284–93.

RAMPINELLI, Jamile Rosa et al. Produção de Pleurotus djamor e avaliação de seu potencial nutricional. 2009.

REIS, Filipa S. et al. Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. **Trends in Food Science & Technology**, v. 66, p. 48-62, 2017.

REIS, Eduardo Echer dos. Influência da incubação in vitro com extrato de Pleurotus albidus no estresse oxidativo cardiovascular e na reatividade vascular. 2019.

SANTOS, Camilo de Lellis; RAFACHO, Alex; BOSQUEIRO, José Roberto. Efeitos da administração de dexametasona in vivo sobre glicemia, insulinemia e substratos circulantes são dependentes do tempo de tratamento. **Biosci. j.(Online)**, 2007.

SBD - **Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**: 2019-2020. São Paulo: Clannad; 2018. SEABRA, A.L.R.

SEVERINO, Cristiana et al. Low-dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 283, n. 2, p. E367-E373, 2002.

SILVERTHORN et al. Human physiology: an integrated approach. 2017.

SOBAL, M. et al. Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of Mexico. **Micología Aplicada Internacional**, v. 19, n. 1, p. 15-23, 2007.

SÓTÃO, Helen Maria Pontes; LOBATO, Luis Carlos Batista; DA SILVA, Carlos Alberto Santos. Fungos Macroscópicos e Uredinales da Costa do Amapá e Região de Lagos. **Floresta**, v. 26, p. 04, 2004.

SOKOVIĆ, Marina et al. Mushrooms as sources of therapeutic foods. In: **Therapeutic Foods**. Academic Press, 2018. p. 141-178.

STOFFEL, Fernanda et al. Chemical features and bioactivity of grain flours colonized by macrofungi as a strategy for nutritional enrichment. **Food chemistry**, v. 297, p. 124988, 2019.

SU, Ming; CHEN, Chingchi; RAJAN, Siddharth. Prospects for the application of GaN power devices in hybrid electric vehicle drive systems. **Semiconductor Science and Technology**, v. 28, n. 7, p. 074012, 2013.

WEGO, Marius Trésor et al. Protective effects of aqueous extract of Baillonella toxisperma stem bark on dexamethasone-induced insulin resistance in rats. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2019, 2019.

WHEATCROFT, S. B. et al. Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function. **Diabetic Medicine**, v. 20, n. 4, p. 255-268, 2003.

WILCOX, Gisela. Insulin and insulin resistance. **Clinical biochemist reviews**, v. 26,

n. 2, p. 19, 2005.

WU, Junqiu et al. Identifying the key factors that affect the formation of humic substance during different materials composting. **Bioresource technology**, v. 244, p. 1193-1196, 2017.

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

YU, J. et al. Exercise improved lipid metabolism and insulin sensitivity in rats fed a high-fat diet by regulating glucose transporter 4 (GLUT4) and musclin expression. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 49, 2016.

ZHANG, Zuofa et al. Production of powerful antioxidant supplements via solid-state fermentation of wheat (*Triticum aestivum* Linn.) by *Cordyceps militaris*. **Food Technology and Biotechnology**, v. 50, n. 1, p. 32-39, 2012.