

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE *PLEUROTUS ALBIDUS* NA RESISTÊNCIA INSULÍNICA

**KAREN MARTIRENA MONKS DA SILVA¹; TAIS KÖPP DA SILVEIRA²; FABRÍCIO
TABELIÃO DEGRANDIS²; PAULO SÉRGIO VIEIRA MACHADO²
MARIANA PARROM PAIM²; PAULO CAVALHEIRO SCHENKEL³**

¹*Universidade Federal de Pelotas – martirenakaren@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – taiskopp@hotmail.com; fabricodegra@hotmail.com;
paulosponto@gmail.com; maa_paim@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – schenkel.paulo@ufpel.edu.br*

1. INTRODUÇÃO

A resistência à insulina (RI) consiste na alteração da resposta celular e tecidual a concentrações fisiológicas do hormônio insulina (YU et al., 2016). Diversos modelos experimentais já foram testados para mimetizar os distúrbios relacionados com a função das células endócrinas do pâncreas. Dentre esses, a dexametasona têm sido bastante utilizada (DE SOUZA CARDOSO, 2018), pois os glicocorticóides são capazes de induzir alterações metabólicas como, por exemplo, o aumento dos níveis plasmáticos de glicose e de insulina e, assim, induzem a RI (NOVELLI et al., 1999; DE LELLIS SANTOS; RAFACHO; BOSQUEIRO; 2007).

Neste contexto, a utilização de cogumelos parece promissora, pois estes apresentam propriedades que podem 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* possuem várias propriedades medicinais, sendo o *Pleurotus albidus*, alvo deste estudo uma espécie que se destaca por ainda ter sido pouco estudada e apresentar potencial anti hiperglicêmico. O tratamento com extrato de *P. albidus* na disfunção mitocondrial de células endoteliais (EA.hy926) mostrou redução as espécies reativas de oxigênio (ERO), 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).

Amparado nos achados prévios, o presente estudo teve como objetivo principal avaliar os efeitos do extrato de *Pleurotus albidus* na resistência insulínica induzida por dexametasona comparando um método usual e adjuvante no tratamento à RI, utilizando o fármaco metformina e outra espécie de cogumelo, o *Pleurotus ostreatus*.

2. METODOLOGIA

O projeto foi submetido à Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA/UFPel) e recebeu parecer favorável para sua execução (CEEA nº 5570-2020).

Foram utilizados 35 camundongos machos, da linhagem C57BL/6, com aproximadamente 45 dias, provenientes do Biotério do Campus Capão do Leão da UFPel. Estes foram divididos nos seguintes grupos ($n= 7$ animais por grupo) experimentais: Grupo controle: camundongos tratados com veículo; Grupo dexametasona: camundongos tratados com veículo e induzidos a RI com dexametasona; Grupo Metformina: camundongos tratados com metformina e induzidos a RI por dexametasona; Grupo *P. albidus* e Grupo *P. ostreatus*: camundongos tratados com 1000 mg/kg dos extratos de *P. albidus* e *ostreatus* induzidos a RI com dexametasona. O experimento durou 40 dias e os animais recebiam as administrações 1 vez por dia entre 7-8 horas.

Os extratos de *P. albidus* e *P. ostreatus* foram diluídos em água destilada e administrados na dose 1000 mg/Kg de peso corporal e a metformina foi dada na dose de 40 mg/Kg de peso corporal, sendo todos administrados por via intragástrica (XIONG et al., 2018).

A indução da RI foi realizada pelo tratamento com dexametasona (100 mg/kg de peso corporal) por injeções diárias por via intraperitoneal (i.p.) nos últimos 7 dias experimentais (WEGO et al., 2019).

Os testes de tolerância à glicose (TTG) e tolerância à insulina (TTI) foram realizados no 40º e 41º dia, respectivamente, com os animais em jejum de 4 horas. Para realização do TTG foi administrado uma solução de D-glicose (2 g/kg de peso corporal) (i.p) e a glicemia mensurada nos tempos: 0, 15, 30, 60 e 120 min (BENNIS et al., 2017). Após esse procedimento, os camundongos foram devolvidos às suas gaiolas.

O teste TTI foi realizado no dia seguinte por meio da aplicação de uma injeção (i.p) de insulina (0,5 U/kg de peso corporal) seguida de avaliação glicêmica nos seguintes tempos: 0, 5, 20, 35 e 60 minutos. Sendo a constante de decaimento da glicemia (KITT) calculada pela variação glicêmica relativa entre os tempos 5 e 20 min do TTI segundo previamente descrito por Bonora et al. (1989).

Com a finalização do TTI, os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por exsanguinação cardíaca.

As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism e os dados foram apresentados como média \pm erro padrão médio (EPM). Foi utilizado ANOVA de 2 vias, seguido do teste complementar de Bonferroni. Foi aceito como significativo os resultados com $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

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 35 animais foi de 97 ± 14 mg/dL. Houve um decaimento significativo da glicemia 20 minutos após a administração da insulina. O KITT foi de $1,04 \pm 0,87$ glicose sanguínea/min.

No TTG avaliado ao final do período experimental foi observada uma redução significativa na glicemia do grupo Dexa quando comparados os tempos

30 e 120 min. De forma semelhante, o grupo *P. ostreatus* apresentou redução na glicemia entre os tempos 30 e 60 min. 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.

Ao final do período experimental, a glicemia média foi de 99 ± 14 mg/dL, não apresentando diferença significativa em relação a glicemia inicial e entre os respectivos grupos experimentais. A sensibilidade à insulina no grupo controle no final do período experimental foi semelhante ao inicial, apresentando decaimento da glicemia de aproximadamente 14% entre os tempos 5 e 20 min. Diferentemente do controle, embora não de forma significativa, os grupos tratados com dexametasona não apresentaram redução da glicemia após administração de insulina no TTI, dado reforçado pela variação negativa do KITT no grupo Dexa. A suplementação com metformina atenuou parcialmente essa resposta, enquanto que o grupo *P. albidus* mostrou tendência em prevenir a RI.

A suplementação com *P. albidus*, embora não de forma significativa, apresentou potencial em prevenir a RI 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 RI.

Para avaliação da curva glicêmica, os animais foram submetidos a TTI e TTG, este último foi realizado por via i.p, corroborando com a metodologia empregada por Garcia et al. (2019). No presente estudo a escolha do TTG por via i.p foi utilizada visando uma resposta fisiológica mais rápida sobre os aspectos de absorção da glicose no teste empregado. Embora os achados na literatura 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 na 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).

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.

Outro componente relevante presente nos cogumelos e que pode minimizar os efeitos da RI, são os polissacarídeos ricos em glucanos. Estudo realizado com o cogumelo *P. sajor-caju* e dieta hiperlipídica mostrou que os grupos tratados com o polissacarídeo melhoraram a tolerância à glicose, atenuaram a hiperglicemia e a hiperinsulinemia nos camundongos por meio da regulação positiva das expressões gênicas de adiponectina e GLUT-4 (KANAGASABAPATHY et al., 2012).

4. CONCLUSÕES

Relevante questão a ser considerada nos resultados encontrados 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 RI, algo que nos trouxe respostas que enalteceram o potencial de sua utilização prévia sobre os efeitos do aparecimento da RI *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 obtidos neste estudo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CASTRO-ALVES, V. C. 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.
- CHEN, S-Y 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.
- DE LELLIS SANTOS, C.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J. R. Efeitos da administração de dexametasona in vivo sobre glicemia, insulinemia e substratos circulantes são dependentes do tempo de tratamento. **Bioscience Journal**, 2007.
- DE SOUZA CARDOSO, J. et al. Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance. **Redox report**, v. 23, n. 1, p. 41-46, 2018.
- DUBOST, N. J; OU, B; BEELMAN, R 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.
- GAMBATO, G. et al. Pleurotus albidus modulates mitochondrial metabolism disrupted by hyperglycaemia in EA. hy926 endothelial cells. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.
- GARCIA, D. N. et al. Effect of caloric restriction and rapamycin on ovarian aging in mice. **Geroscience**, v. 41, n. 4, p. 395-408, 2019.
- KANAGASABAPATHY, G. 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.
- NOVELLI, M 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.
- PAPOUTSIS, K. 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.
- 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.
- XIONG, M. 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.