

## INFLUÊNCIA DO EXTRATO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* NA ABSORÇÃO DE GLICOSE INTESINAL PELO TRANSPORTADOR DE SÓDIO GLICOSE DO TIPO 1 EM CAMUNDONGOS C57BL/6

PAOLA QUEVEDO DA COSTA<sup>1</sup>; KAREN MARTIRENA MONKS DA SILVA<sup>2</sup>, TAIS KOPP DA SILVEIRA<sup>2</sup>, FERNANDO DIÓGENES TEIXEIRA MEYER<sup>2</sup>, SÉRGIO ALBERTO RAZERA DE MATOS JÚNIOR<sup>2</sup> E PAULO CAVALHEIRO SCHENKEL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas 1 – [quevedopaola97@gmail.com](mailto:quevedopaola97@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – [martirenakaren@gmail.com](mailto:martirenakaren@gmail.com); [taiskopp@hotmail.com](mailto:taiskopp@hotmail.com); [fdtmeyer@gmail.com](mailto:fdtmeyer@gmail.com); [sergiomatos48@gmail.com](mailto:sergiomatos48@gmail.com)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – [schenkel.paulo@ufpel.edu.br](mailto:schenkel.paulo@ufpel.edu.br)

### 1. INTRODUÇÃO

Os carboidratos, classificados em monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos, constituem 75% do mundo biológico e aproximadamente 80% do aporte calórico da humanidade (ALMEIDA et al., 2008). Desses, a glicose e a galactose competem pela ligação na proteína de membrana luminal conhecida como transportador de sódio-glicose do tipo 1 (SGLT1). Estudos mostram que o SGLT1 é desregulado em doenças como diabetes mellitus tipo 2 e obesidade, visto que a sua expressão é estreitamente associada à composição da dieta (STEARNS et al., 2010). Neste contexto, uma alimentação com substâncias bioativas pode contribuir positivamente para a saúde da população. Dentre outros, os cogumelos são conhecidos por seus efeitos benéficos (imunomoduladores, anti-hipertensivos, anti obesogênicos, antioxidantes e anticancerígenos) e merecem destaque (CHANG; WASSER, 2018). Ainda, os cogumelos pertencentes ao gênero *Pleurotus*, especialmente os da espécie *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*), têm sido utilizados em pesquisas científicas e mostrado bons resultados no metabolismo glicêmico.

Assim, no presente estudo analisamos a influência do extrato de *P. ostreatus* na absorção da glicose por meio do SGLT1.

### 2. METODOLOGIA

O projeto foi submetido à Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEa/UFPe) e recebeu parecer favorável para sua execução (CEEa nº 038180/2022-74). A pesquisa foi desenvolvida nas dependências do laboratório de fisiologia cardiovascular do departamento de fisiologia e farmacologia da UFPe e no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Foi utilizada a linhagem pertencente a coleção da empresa Fungi Brasilis - Biguaçu - SC sob denominação #90 de *P. ostreatus*. Todo o processo foi desenvolvido nas dependências da empresa Colonial Fungi em Pelotas – RS.

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

Para isso, a glicemia foi medida no tempo zero (pré administração de *P. ostreatus*) e após 30 e 60 minutos da administração de extrato na dose de 2000 mg/kg por via intragástrica em 48 camundongos machos e fêmeas da linhagem C57BL/6 com aproximadamente 60 dias. Esses foram divididos em quatro grupos experimentais:

1) **Grupo controle (CTRL, n=12):** camundongos que receberam veículo (NaCl 0,9%) e tiveram a glicemia mensurada;

- 2) **Grupo *P. ostreatus* (GPO, n=12):** camundongos que receberam dose única de *P. ostreatus* (2000mg/kg) e tiveram a glicemia mensurada;
- 3) **Grupo *P. ostreatus* 21 dias (GPO 21, n=12):** camundongos que receberam dose única de *P. ostreatus* (2000mg/kg) para avaliação da glicemia após terem sido tratados com o mesmo extrato e na mesma dose por 21 dias ininterruptos.
- 4) **Grupo *P. ostreatus* 21 dias + Florizina (GPO 21 + florizina, n=12):** camundongos que receberam dose única de Florizina e de *P. ostreatus* (2000mg/kg) para avaliação da glicemia após terem sido tratados com o mesmo extrato e na mesma dose por 21 dias ininterruptos.

**Experimento 2:** Avaliar a exposição repetida com *P. ostreatus* (2000mg/kg) por 21 dias sobre a absorção intestinal de sacarídeos e sobre a glicemia

Foram utilizados os mesmos animais e os mesmos grupos experimentais do experimento 1. Primeiramente, os animais dos grupos GPO, GPO 21 e GPO 21 + florizina receberam extrato de *P. ostreatus* por via intragástrica (2000mg/kg) e após 60 minutos foi realizado o teste oral de tolerância à glicose (**TOTG**). Animais do grupo controle passaram pelo mesmo procedimento, mas receberam apenas solução de NaCl 0,9% no mesmo volume.

**Peso corporal e consumo alimentar:** O peso dos animais foi avaliado uma vez por semana durante o período de tratamento até a data da eutanásia. Os animais de todos os grupos receberam ração padrão para roedores marca Nuvilab *ad libitum* e o consumo alimentar foi monitorado uma vez por semana pela diferença em gramas entre a quantidade ofertada e a quantidade restante. Após o experimento dois, todos os animais foram devidamente anestesiados e eutanasiados. Após a eutanásia, foram coletados pulmão, coração e uma porção do intestino delgado dos animais para futuras análises.

**Tratamento com Florizina:** Para inibição do transportador SGLT1 foi administrada Florizina (Sigma, Washington, DC, EUA) em dose única (0,4 g/kg) por via subcutânea (FREITAS *et al.*, 2007). Após 4 horas, foram realizados os devidos testes.

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

**Eutanásia:** Todos os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados decapitação após exsanguinação por punção cardíaca.

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

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Experimento 1

**Influência direta da administração de *P. ostreatus* (2000mg/kg) por via oral na glicemia:** Observamos um aumento significativo na glicemia do grupo GPO entre o tempo zero e 30 minutos ( $P=0,02$ ). Após 60 minutos, a glicemia do GPO retornou

para valores próximos da glicemia basal, assim como o grupo controle, que não variou, de forma significativa, a glicemia ao longo de todo período ( $P=0,975$ ).

**Resultados da exposição repetida com *P. ostreatus* (2000mg/kg) por 21 dias:** A exposição repetida após 21 dias com *P. ostreatus* não influenciou na glicemia basal (tempo zero) dos animais. Ao administrarmos dose única de *P. ostreatus* por via oral a glicemia aumentou significativamente no grupo GPO 21 após 30 minutos em relação a sua glicemia basal ( $p=0,013$ ). Essa diminuiu aos 60 minutos em relação ao seu tempo 30 ( $p=0,009$ ), não retornando aos níveis basais. Diferente do grupo GPO 21, o grupo controle não variou sua glicemia ao longo de todo o período. Além disso, os valores do grupo GPO, mostram que não houve diferença dos valores glicêmicos quando comparado ao grupo que foi submetido ao tratamento (GPO 21). A respeito da influência do *P. ostreatus* sobre a glicemia após exposição prévia e continuada com extrato, é notória a influência da presença de sacarídeos na composição do cogumelo, visto que os grupos GPO e GPO 21 tiveram maior pico glicêmico quando comparado ao CTRL. De acordo com a literatura, os cogumelos do gênero *Pleurotus* contêm grandes quantidades de carboidratos variando entre 24,95 e 75,88%.

**Participação do transportador SGLT1 sobre a glicemia de animais expostos a dose única de *P. ostreatus* após 21 dias de suplementação com o mesmo extrato:** ao analisarmos a influência do SGLT1 com a administração do seu inibidor (florizina), não observamos variação da glicemia ao longo do tempo após administração de *P. ostreatus*. Ou seja, a glicemia foi significativamente menor aos 30 ( $p<0,0001$ ) e 60 ( $p=0,01$ ) minutos nesse grupo em relação ao GPO 21. Ao administrarmos Florizina, observamos que o efeito do *P. ostreatus* sobre a glicemia foi praticamente abolido, sugerindo a presença de sacarídeos na sua composição e indicando a participação do SGLT1. Nossos resultados corroboram os achados de Martus G et al., 2022, que observaram redução da glicemia e da capacidade de difusão da glicose em ratos Sprague-Dawley após injeção intraperitoneal de Florizina. Contudo, não temos conhecimento até o presente momento de estudos que tenham avaliado a associação direta entre *Pleurotus ostreatus* e o SGLT1.

## Experimento 2

**Influência do *P. ostreatus* na curva de glicose (TOTG):** como era de se esperar, ao administrarmos glicose por via oral para realização do TOTG, observamos um aumento da concentração de glicose sanguínea após 30 minutos em todos os grupos experimentais. Além disso, nesse mesmo tempo, o grupo GPO 21 + florizina apresentou valor significativamente menor quando comparado aos demais grupos, e o grupo GPO 21 teve sua glicemia maior em relação ao grupo CTRL e ao GPO. Após 60 minutos do início do teste, os valores glicêmicos retornaram para valores próximos aos basais nos quatro grupos experimentais, sendo esse menor significativamente no grupo GPO21+Florizina quando comparado ao grupo GPO 21 nos tempos 30 e 60 minutos. Já entre os 60 e 120 min, os grupos CTRL e o GPO apresentaram redução significativa na glicemia, sendo essa semelhante entre todos os grupos ao final do experimento.

**Mensuração do peso corporal e do consumo alimentar:** o peso corporal e o consumo alimentar, que eram semelhantes entre os grupos no início do experimento, não apresentaram variações significativas ao longo desse. Nossos

resultados corroboram achados prévios do nosso grupo Silveira (2022) e Silva (2022) e vão ao encontro dos achados de Xiong et al (2017).

#### 4. CONCLUSÕES

Em conclusão, a exposição repetida com *P. ostreatus* por 21 dias parece facilitar a absorção intestinal dos sacarídeos pelo SGLT1, mas não prejudica a regulação glicêmica de camundongos C57BL/6. Vale ressaltar que, diferente de outros trabalhos, animais sadios foram utilizados no presente estudo. Portanto, análises adicionais são importantes para enriquecer o entendimento mecanístico. Assim, o presente estudo servirá de base para futuras pesquisas em distúrbios do controle glicêmico, visando sua utilização na prevenção e/ou tratamento dessas doenças.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

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

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

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

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.