

## INFLUÊNCIA DO EXTRATO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* NA SENSIBILIDADE À INSULINA E NA HIPERTROFIA CARDÍACA EM MODELO ANIMAL DE HIPERTENSÃO ARTERIAL PULMONAR

FERNANDO DIOGENES TEIXEIRA MEYER<sup>1</sup>; TAÍS KÖPP SILVEIRA<sup>2</sup>; PAOLA QUEVEDO DA COSTA<sup>3</sup>; KAREN MARTIRENA MONKS DA SILVA<sup>4</sup>; PAULO CAVALHEIRO SCHENKEL<sup>5</sup>

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

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [tais kopp@hotmail.com](mailto:tais kopp@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [quevedopaola97@gmail.com](mailto:quevedopaola97@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [martirenakaren@gmail.com](mailto:martirenakaren@gmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [schenkel.paulo@ufpel.edu.br](mailto:schenkel.paulo@ufpel.edu.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial pulmonar (HAP) é uma condição grave caracterizada pelo aumento da pressão nas artérias pulmonares, resultado do aumento da resistência vascular que impõe uma sobrecarga ao ventrículo direito (HUMBERT *et al.*, 2019). Alternativa adjuvante aos tratamentos convencionais têm sido propostas com a utilização de alimentos funcionais e/ou compostos bioativos. Dentre esses, os cogumelos têm merecido destaque por suas características antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e anti-hiperglicêmicas (DA COSTA *et al.*, 2021; BARBOSA *et al.*, 2020). Somado a isso, os cogumelos são alimentos que se destacam por seu valor nutricional, sendo ricos em vitaminas, fibras, proteínas, potássio e selênio (WONG *et al.*, 2020). Dentre diversos gêneros e espécies de cogumelos existentes para consumo, os do gênero *Pleurotus* são os de maior produção mundialmente, sendo a espécie *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*) a mais consumida e estudada (GONZALEZ *et al.*, 2016).

Sendo assim, o presente trabalho tem por objetivo analisar os efeitos do extrato de *P. ostreatus* sobre modelo de HAP em ratos.

### 2. METODOLOGIA

Ratos Wistar machos e fêmeas com, aproximadamente, 60 dias foram divididos em três grupos experimentais: controle (CTR), monocrotalina (MCT) e monocrotalina + *P. ostreatus* (MCT+OST), com 8 animais em cada grupo (4 machos e 4 fêmeas). Para induzir a hipertensão arterial pulmonar, foi administrada monocrotalina (60 mg/kg, i.p.) em dose única nos grupos MCT e MCT+OST. Os animais foram mantidos nas suas caixas no biotério central da UFPEL com ração e água *ad libitum* por 4 semanas. Durante esse período, o peso deles foi mensurado semanalmente e foi administrada diariamente dose de solução aquosa do extrato de *P. ostreatus* (500mg/kg) por gavagem no grupo MCT+OST. Os demais grupos receberam solução de NaCl 0,9% nas mesmas condições. Após 4 semanas, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à insulina (TTI). Para isso, aplicou-se insulina por injeção intraperitoneal após 2 horas em jejum e a glicemia foi mensurada (AccuChek Active, Roche Diagnostics®, USA) nos tempos zero, 5, 20, 35 e 60 minutos.

Em seguida, os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por decapitação com guilhotina. Houve coleta dos pulmões, da artéria aorta, do coração, do fígado para análises histológicas e bioquímicas e da pata traseira esquerda para mensuração do tamanho da tíbia visando o cálculo de hipertrofia cardíaca (FARAHMAND; HILL; SINGAL, 2004; YIN; SPURGEON; RAKUSAN, 1982).

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o software GraphPad Prism 8.0 com os resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Para as análises de comparação entre os grupos foi utilizado ANOVA e  $p \leq 0,05$  como critério de significância no teste de Bonferroni.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os pesos corporais dos animais no início e no final do experimento. Os três grupos apresentaram aumento de peso no decorrer das 4 semanas experimentais, mas o ganho entre os grupos não foi significativo, diferentemente do encontrado na literatura, onde o peso final dos animais tende a apresentar queda considerável no decorrer do experimento (ZHAI *et al.*, 2021).

**Tabela 1 - Variação do peso dos animais.**

| Grupo   | Peso Inicial (g) | Peso Final (g) |
|---------|------------------|----------------|
| CTR     | 323 $\pm$ 13     | 411 $\pm$ 7    |
| MCT     | 270 $\pm$ 17     | 323 $\pm$ 22   |
| MCT+OST | 323 $\pm$ 269    | 316 $\pm$ 19   |

Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Análise realizada utilizando ANOVA de 1 via.

Na tabela 2 são apresentados os pesos dos corações e o comprimento das tíbias dos animais. O peso do coração e o comprimento da tíbia não diferiram significativamente entre os grupos. De acordo com YIN *et al.*, 1982, o comprimento da tíbia é uma medida homogênea e com pouca variação entre si, servindo de referência para normalização da hipertrofia cardíaca em animais da mesma idade. Já o peso total dos corações é uma medida geral deste órgão, devendo ser analisado o peso do ventrículo direito para modelos de HAP.

**Tabela 2 - Variação do peso dos corações e do comprimento das tíbias.**

| Grupo   | Peso Coração (g) | Tíbia (cm)     |
|---------|------------------|----------------|
| CTR     | 1,33 $\pm$ 0,2   | 3,4 $\pm$ 0,09 |
| MCT     | 1,31 $\pm$ 0,24  | 3,4 $\pm$ 0,22 |
| MCT+OST | 1,15 $\pm$ 0,17  | 3,3 $\pm$ 0,12 |

Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Análise realizada utilizando ANOVA de 1 via.

Na tabela 3 são apresentados dois modelos de hipertrofia cardíaca, um utilizando a razão entre o peso do coração e o peso do animal e outra utilizando a razão entre o peso do coração e o comprimento da tíbia. Estatisticamente, os grupos não apresentaram diferenças significativas entre si, tanto na hipertrofia pela razão entre coração-peso como na razão entre coração-tíbia.

A literatura apresenta diferentes metodologia para determinar a hipertrofia cardíaca, como os utilizados por esse estudo, assim como o método de Fulton, utilizando a razão entre o peso do ventrículo direito e a soma do ventrículo esquerdo com o septo cardíaco, como feitos por SHAN *et al.*, 2023 e WANG *et al.*, 2023.

**Tabela 3 - Hipertrofia cardíaca**

| Grupo   | Hipertrofia         |                      |
|---------|---------------------|----------------------|
|         | Coração-Peso (mg/g) | Coração-Tíbia (g/cm) |
| CTR     | 3,25 ± 0,5          | 392,21 ± 51          |
| MCT     | 3,91 ± 0,75         | 363,88 ± 82          |
| MCT+OST | 3,59 ± 0,83         | 361,52 ± 45          |

Dados expressos como média ± desvio padrão. Hipertrofia coração-peso obtida pela razão entre o peso do coração (mg) e o peso do animal (g). Hipertrofia coração-tíbia obtida pela razão entre peso do coração (mg) e o comprimento da tíbia (cm). Análise realizada utilizando ANOVA de 1 via.

Na tabela 4 são apresentados os resultados do teste de tolerância à insulina. Observamos um leve aumento na glicemia em todos os grupos no tempo de 5min, com o grupo controle apresentando maior variação. Nos tempos subsequentes houve gradativa redução da glicemia, com todos os grupos apresentando glicemia com valor menor se comparado com a glicemia basal no tempo zero. Embora o grupo MCT+OST tenha exibido pouca variação da glicemia durante o teste de tolerância à insulina, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Nossos resultados corroboram achados da literatura que não observaram influência da HAP na glicemia (IRWIN *et al.*, 2014; STANISZEWSKA-SLEZAK *et al.*, 2015).

**Tabela 4 - Teste de tolerância à insulina**

| Grupo   | zero      | 5 min      | 20 min    | 35 min    | 60 min    |
|---------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| CTR     | 94,5 ± 7  | 102,5 ± 14 | 92 ± 13   | 101 ± 17  | 80,5 ± 18 |
| MCT     | 88,5 ± 13 | 96,5 ± 25  | 95,5 ± 11 | 90,5 ± 16 | 82 ± 19   |
| MCT+OST | 85,5 ± 11 | 88,5 ± 12  | 90 ± 12   | 86 ± 15   | 84 ± 18   |

Teste de tolerância à insulina durante o período de 4 semanas. Glicemia expressa em mg/dL e tempo expresso em minutos. Dados expressos como média ± desvio padrão da média. Análise realizada utilizando ANOVA de 1 via.

#### 4. CONCLUSÕES

Apesar da administração de monocrotalina ser um modelo clássico de indução da HAP em ratos, ao analisarmos a hipertrofia cardíaca não observamos o seu esperado efeito hipertrófico sobre o coração. Contudo, por aumentar a resistência dos vasos pulmonares, os efeitos da MCT são mais específicos ao ventrículo direito. Portanto, torna-se fundamental análises morfofuncionais seletivas no ventrículo direito desses animais.

Estamos trabalhando neste sentido para verificarmos a indução do modelo experimental de HAP, o que nos permitirá analisar com mais exatidão a influência do *Pleurotus ostreatus*.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WONG, J. H.; NG, T. B.; CHAN, H. H. L.; Mushroom extracts and compounds with suppressive action on breast cancer: evidence from studies using cultured cancer cells, tumor-bearing animals, and clinical trials. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 104, n. 11, p. 4675-4703, 9 abr. 2020. Springer Science and Business Media LLC.

- DA COSTA, P. Q.; PAIM, M. P.; REIS, E. E.; TÜRCK, P.; CAMASSOLA, M.; SCHENKEL, P. C.. Beneficial effects of *Pleurotus albidus* supplementation on body weight and food intake in healthy C57BL/6 mice. **Journal Of Future Foods**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 98-103, set. 2021. Elsevier BV.
- BARBOSA, J. R.; FREITAS, M. M. S.; OLIVEIRA, L. C.; MARTINS, L. H. S.; ALMADA-VILHENA, A. O.; OLIVEIRA, R. M.; PIECZARKA, J. C.; BRASIL, D. S. B.; CARVALHO JUNIOR, R. N. Obtaining extracts rich in antioxidant polysaccharides from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* using binary system with hot water and supercritical CO<sub>2</sub>. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 330, p. 127173, nov. 2020. Elsevier BV.
- CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: potential use as food ingredient. **Journal Of Food Composition And Analysis**, [S.L.], v. 58, p. 69-81, maio 2017. Elsevier BV.
- FARAHMAND, F.; HILL, M. F.; SINGAL, P. K. Antioxidant and oxidative stress changes in experimental cor pulmonale. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 260, n. 1–2, p. 21–9, maio 2004.
- YIN, F. C. P.; SPURGEON, H. A.; RAKUSAN, K. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: Application in the aging rat. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 12, n. 6, 1982.
- ZHAI, W. et al. Sevoflurane prevents pulmonary vascular remodeling and right ventricular dysfunction in pulmonary arterial hypertension in rats. **American Journal of Translational Research**, v. 13, n. 10, p. 11302–11315, 1 jan. 2021.
- SHAN, X. et al. Alopine protects pulmonary hypertension via triggering PPAR $\gamma$  signaling and inhibiting calcium regulatory pathway in pulmonary arterial smooth muscle cells. **AJP Cell Physiology**, v. 325, n. 4, p. C1058–C1072, 4 set. 2023.
- WANG, C. et al. Highly efficient local delivery of endothelial progenitor cells significantly potentiates angiogenesis and full-thickness wound healing. **Acta Biomaterialia**, v. 69, p. 156–169, 15 mar. 2018.
- IRWIN, D. et al. Obesity-Related Pulmonary Arterial Hypertension in Rats Correlates with Increased Circulating Inflammatory Cytokines and Lipids and with Oxidant Damage in the Arterial Wall but not with Hypoxia. v. 4, n. 4, p. 638–653, 1 dez. 2014.
- STANISZEWSKA-SLEZAK, E. et al. Plasma biomarkers of pulmonary hypertension identified by Fourier transform infrared spectroscopy and principal component analysis. **The Analyst**, v. 140, n. 7, p. 2273–2279, 2015.
- HUMBERT, M. et al. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. **European Respiratory Journal**, v. 53, n. 1, p. 1801887, jan. 2019.