INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGA - REDE BIONORTE

AVALIAÇÃO DO COGUMELO OSTRA (*PLEUROTUS OSTREATUS*) SOBRE AS ADAPTAÇÕES ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS DE RATAS ADULTAS PRENHES

EDSON HENRIQUE PEREIRA DE ARRUDA

MANAUS - AM
2023

EDSON HENRIQUE PEREIRA DE ARRUDA

AVALIAÇÃO DO COGUMELO OSTRA (*PLEUROTUS OSTREATUS*) SOBRE AS ADAPTAÇÕES ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS DE RATAS ADULTAS PRENHES

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, (INPA), como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ceci Sales-Campos
Coorientadora: Profa. Dra. Márcia Q. Latorraca

MANAUS - AM
MAIO/2023

Ficha Catalográfica

Catalogação na Publicação (CIP-Brasil)

A779a Arruda, Edson Henrique Pereira de

Avaliação do cogumelo ostra (Pleurotus ostreatus) sobre as adaptações estruturais e funcionais das ilhotas pancreáticas de ratas adultas prenhes. / Edson Henrique Pereira de Arruda; orientadora Ceci Sales-Campos; coorientadora Márcia Q. Latorraca.- Manaus: [s. l.], 2023.

10 MB
81 p. : il. color.

Tese (Doutorado -Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE) - Coordenação do Programa de Pós-Graduação, INPA, 2023.

1. Fungicultura. 2. Pleurotus ostreatus. 3. Cogumelo ostra. I. Campos, Ceci S. II. Latorraca, Márcia Q. III. Título.

CDD 579.616 32

EDSON HENRIQUE PEREIRA DE ARRUDA

AVALIAÇÃO DO COGUMELO OSTRA (PLEUROTUS OSTREATUS) SOBRE AS ADAPTAÇÕES ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS DE RATAS ADULTAS PRENHES

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE, no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em 18 / 05 / 2023

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
gov.br CECI SALES DA GAMA CAMPOS
Data: 19/05/2023 19:40:06-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dra. Ceci Sales-Campos (Orientadora)
INPA

Documento assinado digitalmente
gov.br ANTONIO ALVES DE MELO FILHO
Data: 18/05/2023 13:12:51-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Antonio Alves de Melo Filho
UFRR

Documento assinado digitalmente
gov.br IRLON MACIEL FERREIRA
Data: 18/05/2023 13:31:28-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira
UNIFAP

Documento assinado digitalmente
gov.br PEDRO HENRIQUE CAMPELO FELIX
Data: 18/05/2023 13:16:15-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Pedro Henrique Campelo Félix
UFV

Documento assinado digitalmente
gov.br FRANCISCO HUMBERTO XAVIER JUNIOR
Data: 18/05/2023 13:54:36-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Francisco Humbrto Xavier Júnior
UFPB

DEDICATÓRIA

Dedico à minha família (Ivone, Edson, Lavinia, Letícia, Bernardo Henrique, Vó Onizia) por todo apoio, amor e carinho ao longo desta jornada!

AGRADECIMENTOS

Desejo exprimir os meus agradecimentos a todos aqueles que, de alguma forma, permitiram que esta tese se concretizasse.

À minha orientadora Profa Dra Ceci Sales-Campos, pela oportunidade de realização desse estudo junto ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

À Profa. Dra Márcia Queiroz Latorraca, do Laboratório de Avaliação Biológica de Alimentos, por ter-me deixado fazer parte do seu grupo de trabalho e, ter acreditado em mim e nas minhas capacidades. Agradeço ainda o trato simples, correto e científico, com que sempre abordou as nossas reuniões de trabalho, sem nunca ter permitido que o desalento se instalasse, mesmo quando as coisas não corriam bem. Agradeço-lhe ainda o tema do trabalho, que sempre me aliciou, o que fez, a maioria das vezes, conseguir ultrapassar dificuldades surgidas.

Agradeço, de igual forma, aos colegas do Laboratório de Avaliação Biológica de Alimentos da UFMT (Chaiane Aline Rosa, Piscila Rodrigues e Celso Afonso) e Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis do INPA (Daniele, Paula, Sergio, Larissa B. e Dra Larrisa Chevrouil), pelas conversas que, de uma forma ou de outra, sempre deram resultados práticos importantes; pela forma amiga e generosa com quem sempre me incentivou e ajudou.

À equipe do Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis (LCFC), pertencentes à Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTEI), do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pela concessão das amostras de cogumelos, permitindo que esse trabalho fosse realizado.

À minha família: - Aos meus pais, a minha esposa querida Lavinia Almeida Muller que sempre me deu força e incentivo.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia por viablizar a execução deste trabalho. À PPG-BIONORTE, pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM, pela concessão da bolsa de estudo e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Pró-Amazônia nº 23038.000737/2013-23) pelo apoio financeiro ao projeto.

RESUMO

O *Pleurotus ostreatus* é um cogumelo comestível com elevado valor nutricional que possui atividade antioxidante, hepatoprotetora, anti-inflamatória, hipoglicemiante e hipocolesterolêmica, em animais normais e em diabéticos. A gravidez é um estado fisiológico caracterizado por aumento da demanda da insulina e por mudanças estruturais e funcionais das células β das ilhotas a fim de manter a homeostase glicêmica. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do extrato aquoso de *P. ostreatus* sobre as adaptações estruturais e funcionais das ilhotas pancreáticas durante a prenhez. Inicialmente verificou-se a segurança do uso do extrato de *P. ostreatus* por meio da determinação da evolução gestacional, desempenho reprodutivo, e perfil bioquímico sérico. Foram avaliados quatro grupos de ratas Wistar adultas: 1) grupo não prenhe salina (NPS): ratas virgens tratadas com solução salina 0,9% por via oral; 2) grupo não prenhe tratado com cogumelo (NPC): ratas virgens tratadas com *P. ostreatus* por via oral (100 mg/kg/dia); 3) grupo prenhe tratado com salina por via oral (PS): ratas prenhes tratadas com solução salina 0,9% do 1º ao 15º dia de prenhez; 4) grupo prenhe tratado com cogumelo por via oral (PC): ratas prenhes tratadas com *P. ostreatus* (100 mg/kg/dia) do 1º ao 15º dia de prenhez. O número e o peso dos fetos não diferiram entre os grupos. O tratamento com *P. ostreatus* reduziu o peso corporal final, as concentrações séricas de proteínas totais, lactato desidrogenase, triglicerídeos, ácido úrico, ureia e a área sob a curva de insulina durante o teste oral de tolerância à glicose, independente do estado fisiológico. A alanina aminotransferase foi semelhante nos grupos PS e NPS e maior no grupo PC do que nos grupos NPC, PS e NPS. A fosfatase alcalina foi menor no grupo PC do que no grupo NPC e não diferiu entre os grupos PS e NPS. O colesterol total e o HDL foram maiores no grupo NPS do que nos grupos NPC, PC e PS. Essas variáveis não diferiram nos grupos NPC e PC. A Proteína C Reativa-ultrasensível foi semelhante nos grupos NPC e PC e maior no grupo PS do que nos grupos NPS e PC. O HOMA-B foi semelhante nos grupos NPS e NPC e menor nos grupos PC, NPC e NPS do que no grupo PS. As células α foram maiores no grupo NPC do que nos grupos PC, NPS e PS, e foi semelhante nos grupos NPS e PS. As células β foram maiores nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com solução salina. A intensidade da fluorescência do glucagon foi menor no grupo PS do que no grupo NPS e maior no grupo PC do que no grupo NPC. No grupo NPC, a intensidade da fluorescência do glucagon foi menor do que no grupo NPS e, em contraste, foi maior no grupo PC do que no grupo PS. A intensidade da fluorescência da insulina foi semelhante nos grupos PC e NPC e menor no grupo PS do que no grupo NPS. No grupo NPC, a intensidade da fluorescência da insulina foi maior em comparação ao grupo NPS, assim como no grupo PC em comparação ao grupo PS. A frequência de células endócrinas nas fases G1, S e G2 foi maior nos grupos prenhes do que nos grupos não prenhes e menor nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com solução salina. Portanto, pelo

menos nesta fase da gestação, o extrato aquoso de *P. ostreatus* não comprometeu a saúde materna e fetal, nem interferiu negativamente nas adaptações da estrutura das ilhotas pancreáticas e na homeostase da glicose.

Palavras-chave: células α; células β; glicemia, insulinemia; homeostase glicêmica.

ABSTRACT

Pleurotus ostreatus is an edible mushroom with high nutritional value that has antioxidant, hepatoprotective, anti-inflammatory, hypoglycemic and hypocholesterolemic activity in normal and diabetic animals. Pregnancy is a physiological state characterized by increased insulin demand and by structural and functional changes in islet β cells in order to maintain glycemic homeostasis. This work aimed to evaluate the effects of the aqueous extract of *P. ostreatus* on the structural and functional adaptations of the pancreatic islets during pregnancy. Initially, the safety of using the *P. ostreatus* extract was verified by determining the gestational evolution, reproductive performance, and serum biochemical profile. Four groups of adult Wistar rats were evaluated: 1) saline non-pregnant group (NPS): virgin rats treated with 0.9% saline solution orally; 2) mushroom-treated non-pregnant group (NPC): virgin rats treated with *P. ostreatus* orally (100 mg/kg/day); 3) pregnant group treated with oral saline (PS): pregnant rats treated with 0.9% saline solution from the 1st to the 15th day of pregnancy; 4) pregnant group treated with mushroom orally (PC): pregnant rats treated with *P. ostreatus* (100 mg/kg/day) from the 1st to the 15th day of pregnancy. The number and weight of fetuses did not differ between groups. Treatment with *P. ostreatus* reduced final body weight, serum concentrations of total proteins, lactate dehydrogenase, triglycerides, uric acid, urea and the area under the insulin curve during the oral glucose tolerance test, regardless of the physiological state. Alanine aminotransferase was similar in the PS and NPS groups and higher in the PC group than in the NPC, PS and NPS groups. Alkaline phosphatase was lower in the PC group than in the NPC group and did not differ between PS and NPS groups. Total cholesterol and HDL were higher in the NPS group than in the NPC, PC and PS groups. These variables did not differ in the NPC and PC groups. Ultrasensitive C-Reactive Protein was similar in the NPC and PC groups and higher in the PS group than in the NPS and PC groups. HOMA-B was similar in the NPS and NPC groups and lower in the PC, NPC and NPS groups than in the PS group. α cells were larger in the NPC group than in the PC, NPS and PS groups, and it was similar in the NPS and PS groups. β cells were larger in the mushroom-treated groups than in the saline-treated groups. The intensity of glucagon fluorescence was lower in the PS group than in the NPS group and higher in the PC group than in the NPC group. In the NPC group, the intensity of glucagon fluorescence was lower than in the NPS group and, in contrast, was higher in the PC group than in the PS group. Insulin fluorescence intensity was similar in the PC and NPC groups and lower in the PS group than in the NPS group. In the NPC group, the intensity of insulin fluorescence was higher compared to the NPS group, as well as in the PC group compared to the PS group. The frequency of endocrine cells in phases G1, S and G2

was higher in pregnant groups than in non-pregnant groups and lower in mushroom-treated groups than in saline-treated groups. Therefore, at least at this stage of pregnancy, the aqueous extract of *P. ostreatus* did not compromise maternal and fetal health, nor negatively interfere with the adaptations of the structure of the pancreatic islets and glucose homeostasis.

Keywords: α cells, β cells, glycemia, insulinemia, glucose homeostase.

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Parâmetros somáticos, ingestão alimentar e pesos de órgãos de ratas não prenhes tratadas com salina (NPS), prenhes tratadas com salina (PS), não prenhes tratadas com cogumelo (NPC) e prenhes tratadas com cogumelo (PC). **33**

Tabela 2 - Parâmetros bioquímicos séricos de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS), prenhes tratadas com solução salina (PS), não prenhes tratadas com cogumelo (NPC) e prenhes tratadas com cogumelo (PC). **34**

Figura 1 - Curvas glicêmicas (A e B), curvas insulinêmicas (C e D), áreas sob as curvas glicose (E) e insulina (F) durante o teste oral de tolerância à glicose, relação glicose 120 min:insulina 120 min (G) e valores HOMA-B (H) de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS, n = 4 ratas), prenhes tratadas com solução salina (PS, n = 4 ratas), não prenhes tratadas com cogumelos (NPC, n = 4 ratas) e prenhes tratadas com cogumelo (PC, n=4 ratas). **35**

Figura 2 - Áreas relativas das ilhotas (A), células α (C) e células β (E); massa de ilhotas (B), células α (D) e células β (F); tamanho das células α (G) e de células β (H) de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS, n = 4 ratos), prenhes tratadas com solução salina (PS, n = 4 ratos) não prenhes tratadas com cogumelos (NPC, n=4 ratos) e prenhes tratadas com cogumelos (PC, n=4 ratos). **36**

Figura 3 – Imagens representativas de ilhotas pancreáticas mostrando fluorescência da insulina para células β (vermelho) e glucagon para células α (verde). Os núcleos foram corados com DAPI (azul). Intensidade de fluorescência do glucagon (A) e da insulina (B) em ilhotas de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS, n=4 ratas), prenhes tratadas com solução salina (PS, n=4 ratas), não prenhes tratadas com cogumelos (NPC, n=4 ratas) e prenhes tratadas com cogumelos (PC, n=4 ratos). **37**

Tabela 3 - Performance reprodutiva de ratas prenhes tratadas com salina (PS) e prenhes tratadas com cogumelo (PC). **38**

Figura 4 – Imagens representativas mostrando células endócrinas em proliferação (fases G1, S e G2) imunomarcadas em vermelho em inserções de FISH (A). Frequência de células endócrinas nas fases G1, S e G2 de ilhotas de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS, n = 4 ratas), prenhes tratadas com solução salina (PS, n = 4 ratas) não prenhes tratadas com cogumelos (NPC, n = 4 ratas) e prenhes tratadas com cogumelos (PC, n=4 ratas). **39**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HCl	Ácido clorídrico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
AMPc	Adennosina monofosfato cíclico
ADP	Adenosina difosfato
AMP	Adenosina monofosfato
ATP	Adenosina trifosfato
PP	Células produtoras de polipeptídeo pancreático
Co	Cobalto
Cu	Cobre
DAG	Diacialglicerol
ELISA	Ensaio imunoenzimático
EGS	Extrato de capim elefante
Fe	Ferro
PLC	Fosfolipase C
g/kg	Grama por quilograma
IgG	Imunoglobulina G
THP-1	Linhagem celular monocítica humana
HDL	Lipoproteína de alta densidade
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
Ln	Logaritmo natural
Log	Logaritmo
Mn	Manganês
mg/g	Miligrama por grama
mg/kg	Miligrama por quilograma
NPC	Não prenhe cogumelo
NPS	Não prenhe salina
N	Normalidade
G1	Parte do ciclo celular onde a célula replica seu DNA
G2	Parte do ciclo celular onde a célula se prepara pra mitose
S	Parte do ciclo celular onde ocorre a interfase e a célula cresce
pH	Potencial hidrogeniônico

PC	Prenhe cogumelo
PS	Prenhe salina
AMPK	Proteína quinase atividada por AMP
Kcal	Quilocaloria
UV-B	Raios ultravioleta B
HSD	Teste estatístico para comparação múltipla
SW480	Potencial marcador de metástase em câncer colorretal
GLUT4	Transportador de glicose insulino sensível
mmol/L	Milimol por litro
HOMA-B	Homeostasis Model Assessment-B
PCR-US	Proteína C reativa ultrasensível
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO *14*
1.2 OBJETIVO GERAL **16**
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS **16**
2 REVISÃO BIBIOGRÁFICA *17*
2.1 VALOR NUTRICIONAL DO *P. ostreatus* **18**
2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS DO *P. ostreatus* **19**
2.3 PROPRIEDADES ANTI-DIABÉTICAS DO *P. ostreatus* **21**
2.4 ESTRUTURA E FUNÇÃO DO PÂNCREAS ENDÓCRINO **22**
2.5 ADAPTAÇÕES DO PÂNCREAS ENDÓCRINO NA GRAVIDEZ **25**
3 MATERIAIS E MÉTODOS *26*
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO **26**
3.2 CULTIVO DE COGUMELOS **26**
3.3 EXTRATO AQUOSO DE PREPARAÇÃO DE *P. ostreatus* **26**
3.4 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS **26**
3.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS **27**
3.5.1 Teste oral de tolerância à glicose **28**
3.5.2 Coleta de sangue, eutanásia, colheita de órgãos e determinações bioquímicas e hormon **28**
3.5.3 Processamento histológico **29**
3.5.4 Morfometria **29**
3.5.5 Análise estatística **30**
4 RESULTADOS *30*
5 DISCUSSÃO *39*
6 CONCLUSÃO *44*
REFERÊNCIAS *45*
ANEXOS *64*

1 INTRODUÇÃO

Os cogumelos são mundialmente consumidos por possuírem elevado valor nutricional, propriedades medicinais e grande valor econômico e ecológico [1-3]. Em geral, os cogumelos contêm 90% de água e 10% de matéria seca [4-5], além de quantidades significativas de vitaminas e aminoácidos essenciais [4], sendo o seu valor nutricional comparado ao do ovo, leite e carne [6]. Aproximadamente 14.000 espécies de cogumelos já foram identificadas até agora, das quais cerca de 2.200 espécies são identificadas como cogumelos comestíveis. Entre estas, cerca de 650 espécies têm sido amplamente estudadas, cultivadas e consumidas para aplicações médicas e de saúde [7].

O *Pleurotus spp*. consiste em cerca de 40 espécies distribuídas em uma ampla gama de regiões tropicais e temperadas. Um grande número de espécies de *Pleurotus* foi identificado e tem sido comercializado. A combinação do alto valor nutricional, bioatividade e segurança no consumo do corpo de frutificação em pó do *Pleurotus* destaca seu potencial como agente nutracêutico promotor de saúde e da qualidade de vida. No entanto, muitas espécies de *Pleurotus spp.* ainda precisam ser analisadas quanto ao seu potencial nutracêutico e medicinal [8].

O *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) P. Kumm., é o segundo fungo mais cultivado no mundo [9-10]. As propriedades nutracêuticas associadas ao *P. ostreatus* incluem atividade hipocolesterolêmica, antioxidante, antitumoral, hepatoprotetora, hipotensora, antinociceptiva e antifúngica [11], bem como efeito anti-inflamatório e hipoglicemiante em animais normais e em diabéticos [12-13]. O efeito hipoglicêmico do *P. ostreatus* tem sido atribuído, entre outros mecanismos, ao aumento da secreção de insulina e da ação desse hormônio em tecidos periféricos [14]. Embora o potencial hipoglicêmico oral agudo e crônico e hiperinsulinêmico do *P. ostreatus* tenha sido estabelecido, o mecanismo celular e os seus efeitos sobre a estrutura e função das ilhotas pancreáticas, bem como sobre a ação da insulina durante a gestação foi pouco explorado.

Na gravidez normal a resistência à insulina branda é uma adaptação que garante o crescimento fetal. Para manter a homeostase glicêmica as ilhotas pancreáticas utilizam uma variedade de mecanismos adaptativos, incluindo aumento da massa e do número de células β, e da capacidade de secreção de insulina. Quando a secreção não consegue atender a demanda aumentada de insulina devido à resistência periférica a esse hormônio, pode ocorrer hiperglicemia e diabetes *mellitus* gestacional. As alterações comumente observadas no diabetes *mellitus* gestacional, como lipotoxicidade, inflamação, estresse oxidativo, deficiências de

adipocina e da sinalização na placenta estão associadas com a adaptação prejudicada das células β pancreáticas [15].

Recentemente, um ensaio clínico randomizado controlado por placebo mostrou que a ingestão de cogumelo (*Agaricus bisporus*) resultou em um risco significativamente menor de hipertensão gestacional, pré-eclâmpsia, ganho de peso gestacional, diabetes gestacional e macrossomia [16]. A julgar por resultados de estudos que avaliaram outras espécies de cogumelos em modelos de diabetes gestacional e mostraram segurança do consumo durante a gestação para mãe e feto, além das propriedades antioxidantes, hipolipidêmica, hipoglicemiante e hepatoprotetora [17-19], é provável que o *P. ostreatus* possua propriedades que interfiram beneficamente nas adaptações do pâncreas e dos tecidos alvo da insulina durante a gestação. Estudos que esclareçam esses aspectos podem contribuir para a expansão dos conhecimentos sobre a atividade farmacológica e o direcionamento do uso dessa espécie de cogumelo como agente nutracêutico.

1.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os efeitos do extrato aquoso do *P. ostreatus* sobre as adaptações estruturais e funcionais das ilhotas pancreáticas de ratas Wistar durante a prenhez.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Verificar a evolução gestacional e o desempenho reprodutivo de ratas tratadas durante a prenhez com o extrato aquoso de *P. ostreatus.*

- Determinar as funções hepática e renal de ratas tratadas durante a prenhez com extrato aquoso de *P. ostreatus.*

- Verificar o perfil lipídico de ratas tratadas durante a prenhez com o extrato aquoso de *P. ostreatus.*

- Caracterizar a morfologia das ilhotas pancreáticas e das células endócrinas em ratas tratadas com *P. ostreatus* durante a prenhez.

- Verificar a função das células β *in vivo* em ratas tratadas com *P. ostreatus* durante a prenhez.

- Determinar a sensibilidade à insulina *in vivo* em ratas tratadas com *P. ostreatus* durante a prenhez.

- Verificar o perfil glicêmico de ratas tratadas com *P. ostreatus* durante a prenhez.

2 REVISÃO BIBIOGRÁFICA

Os cogumelos compreendem um grupo de fungos de tamanho macroscópico, que possui corpo de frutificação distinto e produz bilhões de esporos. Apresentam morfologia variável, com corpos de frutificação variando de colorido (amarelo, laranja, vermelho, violeta ou verde), escura (marrom ou preto) a incolor (branco ou hialino), de consistência carnosa frágil a coriácea resistente [20-22].

Atualmente, o cultivo de cogumelos comestíveis é processo biotecnológico que utiliza resíduos da agroindústria geralmente queimados ou desprezados, tais como esterco animal, palhas de cereais, resíduos de madeira e diversas gramíneas [10, 23-25]. Ao utilizarem esses resíduos como substratos, os fungos promovem a ciclagem de carbono e outros elementos, e simultaneamente produzem enzimas que degradam elementos complexos e permitem a absorção de substâncias solúveis utilizadas para a sua própria nutrição [26]. O cultivo de cogumelos comestíveis fornece alimento de alto valor nutricional e substâncias bioativas com as mais variadas aplicações farmacológicas [27-28]. Adicionalmente, o subatâncias bioatsubstrato residual resultante do cultivo de cogumelos comestíveis pode ser utilizado como forragem para animais, condicionador de solo ou fertilizante natural ou como alimento para animais, fechando o ciclo de aproveitamento da matéria-prima [29]. Portanto, o cultivo de cogumelos tem importante função ecológica e econômica, podendo vir a ser uma solução para as carências nutricionais e a poluição ambiental [10].

Cerca de 300 espécies de cogumelos são comestíveis, mas apenas 30 foram domesticadas e dez cultivadas comercialmente [30]. O principal cogumelo cultivado no mundo é o *Agaricus bisporus* seguido por *Pleurotus* sp. [9], *Lentinula edodes*, e outros cogumelos que já possuem lugar importante no mercado [3].

Particularmente, o *P. ostreatus* pode ser cultivado de forma simples e barata, pois requer um tempo de crescimento menor comparado a outros cogumelos comestíveis, o substrato utilizado para o seu cultivo é menos dispendioso e durante o seu crescimento converte uma alta porcentagem do substrato em corpos de frutificação (basidioma), aumentando a lucratividade. Além disso, o *P. ostreatus* exige menores controles ambientais, e seus corpos de frutificação não são frequentemente atacados por doenças e pragas [3]. Do ponto de vista nutricional, possui sabor e propriedades aromáticas únicos, é considerado rico em proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas e minerais. Finalmente, são também promissores como cogumelos medicinais, exibindo atividades hematológicas, antivirais, antitumorais, antibióticas, antibacterianas, antidiabética, hipocolesterolêmicas e imunomoduladoras [31].

2.1 VALOR NUTRICIONAL DO *P. ostreatus*

O uso de cogumelos como alimento é tão antigo quanto a civilização humana, tendo grande importância na dieta por seu valor nutricional: são ricos em proteínas, carboidratos não amiláceos, fibras alimentares, minerais, vitamina, possuem baixa quantidade de gordura, mas têm excelente teor de ácidos graxos essenciais [32-33]. As características de crescimento, o estágio e condição pós-colheita podem influenciar a composição e o valor nutricional dos cogumelos comestíveis. Além disso, grandes variações ocorrem tanto entre as espécies como dentro delas [34-35].

Os cogumelos comestíveis contêm uma porcentagem alta de umidade que varia entre 80 e 95 g/100 g, aproximadamente, e grande teor de cinzas (80-120 g/kg de matéria seca), principalmente potássio, fósforo, magnésio, cálcio, cobre, ferro e zinco. Os carboidratos são encontrados em altas proporções, incluindo quitina, glicogênio, trealose e manitol; além disso, contêm fibras, β-glucanas, hemiceluloses e substâncias pécticas. Glicose, manitol e trealose são açúcares abundantes em cogumelos comestíveis cultivados, mas frutose e sacarose são encontradas em quantidades baixas. O teor de proteína varia entre 200-250 g/kg de matéria seca, sendo leucina, valina, glutamina, ácidos glutâmico e aspártico os aminoácidos mais abundantes. Com 20-30 g de lipídios/kg de matéria seca, predominam os ácidos graxos linoleico, oleico e palmítico. Quanto as vitaminas, os cogumelos possuem altos teores de riboflavina, niacina, folatos e traços de vitamina C, B_1, B_{12}, D e E. Ao contrário dos cogumelos cultivados, os selvagens são geralmente excelentes fontes de vitamina D_2, uma vez que a luz UV-B é necessária para produzir essa vitamina e o cultivo exige ambiente escuro [34-40,].

Uma análise da composição do extrato do corpo de frutificação liofilizado do *P. ostreatus* mostrou conteúdo significativo de carboidratos (55g/100g peso seco) e proteínas (27,45 g / 100 g de peso seco, com uma digestibilidade *in vitro* de 75%) e baixo teor de gordura (4 g / 100 g de peso seco), além de micronutrientes importantes, como minerais (Fe, Cu, Zn, Mn, Mg e Co) e ácido ascórbico [41].

Os resultados de estudo que avaliou o valor nutricional do *P. ostreatus* selvagens da Transilvânia mostraram a seguinte composição em 100g de matéria seca: 332,80 kcal, 62,45g de carboidratos, 11,11 g de cinzas, 17,92 g de proteína bruta, 1,26 g de lipídio bruto [42].

Os corpos de frutificação do *P. ostreatus* fresco cultivados em resíduo de caroço de algodão na Etiópia possuem conteúdos de proteína e gordura brutas de 28,85 e 2,47%, teor de carboidratos de 48,16%, fibra bruta de 12,87% e cinzas de 9,76% [43].

A composição nutricional do *P. ostreatus* produzidos em substratos alternativos à base de resíduos agrícolas e agroindustriais da Amazônia é caracterizada por altos teores de proteínas (11,96-21,16 %), carboidratos metabolizáveis (32,17- 46,15%) e fibras (18,39-31,30%); baixos

teores de lipídios (1,27-2,14%) e de calorias (211,86-251,32 kcal) [44], e altas concentrações de potássio, fósforo, magnésio e ferro [45-46].

O teor de açúcares totais presentes no corpo de frutificação do *P. ostreatus* cultivado e comercializado em Portugal foi de 4,97%, sendo encontrado frutose (0,01%), manitol (0,54%) e trealose (4,42%), e a sacarose não detectada [35].

Os aminoácidos mais abundantes no *P. ostreatus* foram cultivados em palha de trigo, ou misturado com bagaço de uva, ou em subprodutos da indústria da azeitona. Com base no peso seco os aminoácidos totais representaram 130,12 mg/g de amostras, predominando glutamina (7,8-21,69 mg/g), seguido por leucina (8,59-16,45 mg/g), alanina (7,22-13,33 mg/g), valina (4,24 –9,49 mg/g), ácido glutâmico (4,81–7,84 mg/g) e serina (3,93–8,83 mg/g) [47].

Um estudo avaliou a composição de ácidos graxos em um *P. ostreatus* silvestre da região de Anatólia, na Turquia, mostrou níveis de ácidos graxos insaturados maiores do que os saturados (66,48% v*ersus* 21,77%), sendo predominante o ácido graxo essencial *cis*-linoleico (65,29%), seguido pelos ácidos palmítico (12,40%), oleico (10,36 %) e esteárico (3,71%). Isômeros *trans* de ácidos graxos insaturados foram detectados em quantidades muito baixas (0,11%) [32]. A composição de ácidos graxos do corpo de frutificação do *P. ostreatus* cultivado e comercializado em Portugal não foi muito diferente: 69,4% de ácido graxos insaturados, 17,0% de saturados e 13,6% de monoinsaturados, sendo 68,9 % de *cis*-linoleico, 11,2% de palmítico, 12,3% de oleico e 1,6% de esteárico [35].

Portanto, conclui-se que os cogumelos podem contribuir significativamente para superar deficiências nutricionais, especialmente de proteína nos países em desenvolvimento, onde proteínas de boa qualidade de origem animal não estão disponíveis ou são inaceitáveis devido a crenças religiosas [48-49].

2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS DO *P. ostreatus*

Além dos componentes nutricionais, os cogumelos comestíveis contêm quantidades importantes de compostos bioativos, sendo por isso considerados alimento funcional ou excelentes fontes de nutracêuticos. São considerados alimentos funcionais aqueles que fornecem benefícios além da nutrição básica e podem desempenhar um papel na redução ou minimização do risco de certas doenças e outras condições de saúde [50]. Nutracêuticos são definidos como qualquer substância (alimento ou parte de um alimento) que fornecem benefícios médicos ou de saúde, incluindo a prevenção e o tratamento de doenças [51].

As substâncias bioativas encontradas nos cogumelos são os metabólitos secundários (ácidos, terpenóides, polifenóis, sesquiterpenos, alcalóides, lactonas, esteróis, agentes quelantes de metais, análogos de nucleotídeos e vitaminas), glicoproteínas e polissacarídeos,

principalmente β-glucanas. Proteínas com atividades biológicas e que podem ser utilizadas em processos biotecnológicos e para o desenvolvimento de novos medicamentos, incluindo enzimas de degradação de lignocelulose, lectinas, proteases e inibidores de proteases, proteínas inativadoras de ribossomos e hidrofobinas também são encontradas nos cogumelos comestíveis [52].

O teor e o tipo de substâncias biologicamente ativas encontradas nos cogumelos comestíveis podem variar consideravelmente em função das diferenças na linhagem, substrato, cultivo, estágio de desenvolvimento, idade, condições de armazenamento, processamento e práticas de cozimento [37,53-54].

Os estudos que avaliam as propriedades dos cogumelos são na maioria das vezes realizados com os corpos de frutificação. Porém os meios de cultura utilizados no cultivo também têm sido explorados como potenciais fontes de compostos bioativos [55]. O cultivo *in vitro* de micélios também é uma fonte promissora de compostos bioativos, por exigir menor tempo de incubação e menor espaço, além da baixa probabilidade de contaminação e maiores rendimentos de biomassa quando comparados aos corpos de frutificação [56].

Os compostos bioativos identificados nos cogumelos *Pleurotus spp.* podem ser divididos entre aqueles com alto e baixo peso molecular. Os compostos bioativos de alto peso molecular abrangem principalmente polissacarídeos, incluindo β-glucanos, peptídeos e proteínas. Os compostos bioativos de baixo peso molecular incluem terpenos, ésteres de ácidos graxos e polifenóis [57].

Quanto aos polissacarídeos, o *P. ostreatus* contém em 100g de peso seco 25,636 g de glucanos totais e 24,230 g de β-glucanos [58]. Nos corpos de frutificação, *P. ostreatus* contêm 9 g e no micélio os 4,6 g de β-glucanos [59]. Segundo SYNYTSYA *et al*. [60], a concentração de β-glucanas no estipe dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* é de 32,5-50% do peso seco e é maior do que no píleo do cogumelo (27,4-39,2% do peso seco). A concentração total de α-(1→3)-glucanos no basidioma no gênero *Pleurotus* varia de 2,0% a 4,0% de peso seco [58]. Investigações provaram que a fração de α-glucanas dos corpos de frutificação de *P. ostreatus* exibe um efeito antineoplásico contra linhagens de células de câncer colorretal [61]. Outros estudos que isolaram e avaliaram frações de prolissacarídeos do *P. ostreatus* comprovaram propriedades antioxidantes e anti-inflamatórios [62-63].

Proteínas, peptídeos e lectinas são outras substâncias de alto peso molecular presentes em cogumelos do gênero *Pleurotus sp*. que apresentam propriedades medicinais. No *P. ostreatus* foi identificado uma proteína com estrutura semelhante à ubiquitina que tem a propriedades de inibir a transcriptase reversa do vírus da imunodeficiência humana 1 [64]. Um

extrato proteico obtido de *P. ostreatus* exibiu um efeito terapêutico para a linhagem celular de câncer colorretal SW480 e leucemia monocítica THP-1 por induzir apoptose [65].

O ácido ferúlico e o ácido *p*-cumárico são os principais ácidos fenólicos encontrados no gênero *Pleurotus* As concentrações nos corpos de frutificação do *P. ostreatus* são, respectivamente, 30,00 e 10,54 μg/g de peso seco [66].

Cogumelos do gênero *Pleurotus* contêm lovastatina, que pertence ao grupo das estatinas que afetam o metabolismo do colesterol. Esses compostos inibem a oxidação do colesterol LDL e afetam positivamente o sistema de coagulação e fibrinólise. Possuem propriedades anti-inflamatórias, anticoagulantes e antioxidantes. De acordo com ALARCÓN *et al*. [67] o teor médio de lovastatina na matéria seca de cogumelos ostra é de 0,7-2,8%. Em corpos de frutificação de *P. ostreatus* a concentração encontrada foi de 216 mg/kg de matérias seca [68]. ALAM *et al*. [69] realizou um estudo em animais e comprovou que a lovastatina contida nos corpos de frutificação em pó de *P. ostreatus* afetou positivamente o perfil lipídico, bem como as funções hepática e renal. Os níveis de colesterol total e triglicerídeos no sangue dos ratos diminuíram.

2.3 PROPRIEDADES ANTI-DIABÉTICAS DO *P. ostreatus*

O diabetes *mellitus* é um grupo de doenças metabólicas caracterizado por hiperglicemia, resultante da deficiência absoluta ou relativa de insulina associada ou não à resistência à insulina. Os cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus spp.* possuem propriedades anti-diabéticas anti-hiperlipidêmcias atribuídas a presença de compostos bioativos.

O *P. ostreatus* tem um potencial hipoglicêmico promissor em modelo animal de diabetes induzido por aloxana e por estreptozotocina [70-71]. Além do efeito hipoglicêmicos, foi observada redução das concentrações séricas de colesterol, triglicerídeos e colesterol LDL e aumento do colesterol HDL. A administração do extrato de *P. ostreatus* aos animais reduziu significativamente as concentrações séricas de creatinina e ureia, indicando melhora da função renal, e a perda de peso corporal foi interrompida [71]. O efeito hipoglicêmico tem sido associado ao aumento da fosforilação da AMPK (proteína quinase ativada por AMP) e tambem da expressão do RNA mensageiro de GLUT4 nos tecidos muscular e adiposo [70].

Em um estudo com voluntários humanos saudáveis e diabéticos a ingestão de suspensão de liofilizado de *P. ostreatus* (50 mg / kg de peso corporal) seguido por uma carga de glicose teve efeito hipoglicemiante. Nos diabéticos o *P. ostreatus* reduziu significativamente a glicemia de jejum e pós-prandial e aumentou a insulinemia. Os possíveis mecanismos hipoglicêmicos foram avaliados em ratos, por meio do exame da absorção intestinal de glicose e da concentração sérica de insulina, glicoquinase e glicogênio sintase quinase. Nos ratos, o

cogumelo ostra aumentou a absorção intestinal de glicose, mas simultaneamente reduziu a glicemia e a concentração séricas da glicoquinase e do glicogênio sintase quinase, e aumentou a secreção de insulina. O mecanismo hipoglicêmico nesse caso foi atribuído ao aumento da secreção de insulina e da utilização de glicose pelos tecidos periféricos, à inibição do glicogênio sintase quinase que promoveu a síntese de glicogênio [72].

Em modelos experimentais de gravidez são escassos os estudos avaliando o efeito do *P. ostreatus*. Entretanto, efeitos benéficos de uma dieta baseada em *Agaricus bisporus* foram observados em complicações relacionadas à gravidez, como hipertensão e macrossomia, em um recente ensaio clínico randomizado controlado por placebo [16]. Uma amostra de 1.244 mulheres que planejavam a primeira gravidez foi recrutada e distribuída aleatoriamente para consumir pelo menos 100g de cogumelo branco (cozido de acordo com o gosto pessoal) diariamente ou seguir uma dieta normal, desde antes da gravidez até a 20ª semana de gestação. No final, 582 mulheres no grupo que consumiu cogumelo e 580 no grupo placebo completaram o programa. O desfecho primário foi hipertensão gestacional, medida pela pressão arterial diastólica e sistólica; o desfecho secundário incluiu pré-eclâmpsia, ganho de peso corporal gestacional, outras complicações da gravidez, como diabetes *mellitus* gestacional e peso ao nascer. Os resultados mostraram um impacto benéfico da dieta de cogumelos em todos os parâmetros mencionados acima, e um risco significativamente menor de hipertensão gestacional, pré-eclâmpsia, ganho de peso gestacional, diabetes gestacional e macrossomia.

Em ratas com diabetes mellitus gestacional induzida por estreptozotocina com doses diárias de 100 ou 200 mg / kg de peso de *Lentinus edodes* liofilizado e reconstituído reduziu a glicemia, a uremia, os triglicerídeos e aspartato aminotransferase [73]. A exposição de ratas com diabetes gestacional ao *Lentinu edodes* aumentou a insulinemia e melhorou os biomarcadores do estresse oxidativo [19].

2.4 ESTRUTURA E FUNÇÃO DO PÂNCREAS ENDÓCRINO

O pâncreas maduro possui um componente exócrino e outro endócrino que diferem quanto à morfologia e função. A porção exócrina, compreendendo 95 a 99% do pâncreas, inclui as células acinares e ductos, e produz enzimas que promovem a digestão e absorção de nutrientes no intestino. O pâncreas endócrino é um órgão essencial para a manutenção da homeostase glicêmica. As células endócrinas maduras formam as ilhotas de Langerhans, agregados de células derivadas de endodermas espalhados por todo o pâncreas exócrino. Quatro tipos celulares distintos compõem as ilhotas de Langerhans: células α (10-15%), β (65-80%), δ (5%) e PP (10-15%), que produzem e secretam, respectivamente, glucagon, insulina,

somatostatina e polipeptídio pancreático [74-75]. Durante a fase de desenvolvimento, as ilhotas pancreáticas contêm células ε, que produzem grelina [76]. Dentre os cinco diferentes tipos celulares presentes nas ilhotas de Langerhans (células α, β, δ, PP e ε), as células β e α são consideradas as mais importantes para o controle da glicemia, por produzirem e secretarem insulina e glucagon [77].

A população de células β é dinâmica, ocorrendo mudanças compensatórias na sua massa e função, que garantem a manutenção da glicemia numa estreita faixa de variação [78]. A disfunção e/ou redução da massa de células β são observadas no diabetes tipo 1 e no tipo 2 [79].

A massa de células β é determinada pelo balanço entre mecanismos que aumentam (hipertrofia, proliferação, neogênese e transdiferenciação) e que reduzem (atrofia, necrose, autofagia e apoptose) o tamanho e número de células [80-83]. Sabe-se que há aumento da massa ao longo da vida, que ocorre renovação e perda continua (*turnover*); e que ocorrem mudanças compensatórias adicionais para manter a homeostase da glicose [78].

A proliferação consiste na replicação de células existentes. Após o nascimento e sob condições fisiológicas, a replicação a partir de células β preexistentes parece ser o principal mecanismo para a sua reposição [84]. Em ratos normais, a replicação das células β ocorre ao longo da vida, permanecendo estável após a fase de adulto jovem [83]. A taxa de replicação diminui de 15,5% em ilhotas fetais para aproximadamente 3% por 24h em adultos jovens [85]. A incorporação de timidina ou bromodeoxiuridina após uma exposição de 6 horas, correspondeu a uma taxa de replicação de cerca 4% por 24 h em ratos de 1 mês de idade, aproximadamente 1% em ratos de 3 a 4 meses de idade e cerca de 0,5% em ratos adultos e idosos [86].

A neogênese consiste na geração de novas células a partir de células indiferenciadas. As células dos ductos pancreáticos são consideradas células progenitoras pancreáticas. Assim, na neogênese de ilhotas ocorre o brotamento desse micro órgão a partir de células pancreáticas progenitoras/tronco localizados no ducto ou em sua proximidade [87]. A neogênese é o principal mecanismo para a formação de novas células β no embrião, e continua a ocorrer após o nascimento. Na fase perinatal e no desmame, observa-se uma segunda fase de aumento da neogênese e muitas ilhotas são formadas. No animal adulto, o epitélio do ducto origina todos os tipos de células pancreáticas, mas esse epitélio encontra-se quiescente e a neogênese de ilhotas é restringida por fatores locais [78].

A transdiferenciação consiste na conversão de uma célula diferenciada em outro tipo celular [88]. Ocorre naturalmente em duas fases: desdiferenciação da célula, seguida por diferenciação da célula desdiferenciada em uma nova linhagem celular [89]. As células α

secretoras de glucagon podem se diferenciar em células β em diversas situações experimentais. Em condições de perda extrema de células β, pode ocorrer a transdiferenciação espontânea de células α ou δ em células β [90-91].

A apoptose é um dos principais mecanismos responsáveis pela redução da massa de células β. A apoptose ou morte celular programada é um fenômeno biológico complexo caracterizado por encolhimento celular, condensação cromática, fragmentação de ácido desoxirribonucleico internucleosomal e desmontagem em vesículas circundadas por membrana (corpos apoptóticos) [92]. A apoptose pode ser desencadeada por ligação de moléculas a receptores de membrana, agentes quimioterápicos, radiação ionizante, danos no DNA, choque térmico, privação de fatores de crescimento, níveis aumentados de espécies reativas do oxigênio e baixa quantidade de nutrientes [93]. Também está implicada na remodelação do pâncreas endócrino normal após o nascimento, e tem uma função importante no desenvolvimento da massa final das células β [86]. A importância da apoptose na fisiologia do desenvolvimento pancreático normal foi demonstrada no pâncreas neonatal, que tem uma frequência três vezes maior de células apoptóticas do que os animais adultos. Em ratos, o aumento da apoptose foi observado dos 13 aos 20 dias de vida [94]. Em ratos jovens, adultos e velhos a apoptose das células β é baixa e semelhante [83].

Assim como a estrutura, a função das células β pancreáticas é fundamental para a manutenção da homeostase glicêmica. Nessas células a glicose é o agente estimulador da secreção de insulina mais potente, pelo menos nos mamíferos onívoros. A secreção de insulina estimulada pela glicose depende de seu metabolismo pelas células β pancreáticas e do consequente aumento na relação adenosina trifosfato (ATP) / adenosina difosfato (ADP) [95]. Em mamíferos, os dois primeiros passos do metabolismo da glicose são o seu transporte e a sua fosforilação, realizados, respectivamente, por uma família de proteínas transportadoras de glicose (GLUTs) e por duas enzimas que fosforilam esse monossacarídeo [95-96]. Nas células β pancreáticas, são representadas pelo GLUT-2, pela hexoquinase e glicoquinase, cujas atividades mudam de acordo com as variações das concentrações de glicose sanguínea [96-97]. A metabolização da glicose produz uma razão aumentada de ATP/ADP [98]. Como resultado, os canais de potássio sensíveis ao ATP se fecham, a membrana é despolarizada causando a abertura dos canais de cálcio dependentes de voltagem [99]. Ocorre influxo de cálcio que é detectado por múltiplas proteínas de ligação ao cálcio desencadeando a exocitose dos grânulos de insulina [100-102]. O acúmulo de cálcio intracelular estimula ainda as enzimas adenilato ciclase e fosfolipase C (PLC) que geram adenosina monofosfato cíclica (AMPc) e inositol-1,4,5-trifosfato e diacilglicerol (DAG), respectivamente [103]. O inositol-1,4,5-trifosfato mobiliza estoques intracelulares de Ca^{2+} e o AMPc e DAG amplificam o sinal deste íon

facilitando seu influxo por ativação das proteínas quinases dependentes de AMPc e dependentes de cálcio, o que potencializa a secreção de insulina [104].

2.5 ADAPTAÇÕES DO PÂNCREAS ENDÓCRINO NA GRAVIDEZ

A gravidez é um estado fisiológico caracterizado por um aumento da demanda da insulina devido a hiperfagia e a resistência periférica a esse hormônio resultante da elevação da concentração sanguínea de hormônios somatolactogênicos, como prolactina, hormônio do crescimento, lactogênio placentário e hormônio de crescimento placentário. O aumento da demanda por insulina é compensado por uma expansão da massa de células β, e caso isso não ocorra o diabetes gestacional se desenvolve [105].

Em roedores prenhes (20 dias de prenhez) observa-se aumento de 25% no volume de ilhotas em comparação às ilhotas de ratas virgens. A razão entre células β e α é elevada, sugerindo que o aumento da massa do pâncreas endócrino se deve principalmente à proliferação das células β [106]. O pico da expansão da massa celular β ocorre no décimo quarto dia de prenhez [107-108] por uma combinação de aumento na replicação e de hipertrofia associada a baixa taxa de apoptose de células β. O aumento da replicação de células β se inicia ao redor do décimo dia com pico ocorrendo em torno do décimo quarto dia, retornando aos valores do controle aos vinte e um dias de prenhez. A contribuição da neogênese para o aumento da massa de células β durante a prenhez também deve ser considerada. A presença de células β isoladas ou de pequenos grupos de células β em ductos ou no compartimento acinar sugere que a neogênese ocorre na prenhez de diferentes espécies [109]. Finalmente, a apoptose participa da remodelação da massa de células β na prenhez tardia. A partir do vigésimo dia de prenhez observa-se aumento da apoptose das células β [108].

O aumento da massa de células β contribui para uma maior capacidade secretória em resposta ao aumento da necessidade de insulina, porém adaptações no processo de acoplamento estímulo-secreção também garantem o suprimento adequado de insulina e a homeostase glicêmica. É provável que o aumento da sensibilidade das células β à glicose seja um dos mecanismos mais importante [110]. A redução do limiar para a secreção de insulina estimulada pela glicose tem sido considerado o principal mecanismo pelo qual as células β podem liberar significativamente mais insulina em concentrações normais de glicose no sangue [111]. Em roedores, ocorre aumento de cerca de quatro vezes na liberação total de insulina no décimo quinto dia de prenhez. Além disso, ocorre redução do limiar de estimulação da secreção de insulina pela glicose, que atinge 3,25 mmol/L entre o décimo segundo e décimo quinto dia de prenhez [107]. O aumento da expressão do GLUT2, da expressão e da atividade da glicoquinase

parecem se correlacionar com o aumento da taxa de utilização e oxidação da glicose e, consequentemente com a redução do limiar da glicose para estimulação da secreção de insulina e aumento da sensibilidade das ilhotas a essa hexose [112]. O aumento do metabolismo do AMPc e da PLC também tem sido considerado mecanismo envolvido na queda do limiar de glicose para a estimulação da secreção de insulina e no aumento da liberação desse hormônio. Esta hipótese encontra reforço nas observações que em ilhotas de ratas grávidas a elevação da secreção de insulina em resposta à glicose, está associada ao aumento da atividade da adenilato ciclase, e consequente elevação da concentração do AMPc [113], e do metabolismo da PLC [114].

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Uma cepa amazônica de *P. ostreatus* foi obtida da Coleção de Cultura de Microorganismos Agrossilviculturais do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Brasil (cepa código 1467). A palha de capim elefante (EGS) foi escolhida como substrato de cultivo, por ser um material lignocelulósico comumente encontrado na região amazônica.

3.2 CULTIVO DE COGUMELOS

O cultivo de cogumelos foi realizado anteriormente por SALES-CAMPOS *et al*. [46] no Laboratório de Cultivo de Fungos Comestíveis do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Os basidiomas foram colhidos, liofilizados, triturados e armazenados para posterior análise. A composição nutricional e a bioatividade do extrato foram previamente avaliadas e descritas [44-46].

3.3 PREPARAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO

A preparação do extrato aquoso do P. *ostreatus* foi realizada diariamente, dissolvendo-se 30 mg do basidioma liofilizado em 3 mL de solução salina 0,9% fresca. O extrato diluído foi agitado em vortex por 3 minutos, e administrado por gavagem aos animais (10 mg/100g de peso corporal).

3.4 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

O estudo animal foi realizado no Laboratório de Avaliação Biológica de Alimentos do Departamento de Alimentação e Nutrição da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal

de Mato Grosso. Todos os experimentos foram realizados de acordo com os princípios de boas práticas de laboratório e procedimentos científicos e seguiram o guia prático do manual do biotério do Comitê Internacional de Animais de Laboratório. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Mato Grosso (Protocolo nº 23108.039877/2021-21).

Ratos Wistar machos e fêmeas virgens (*Rattus norvegicus*, variedade Albino, ordem Rodentia Mammalia, família Muridae) com 90 dias de idade, obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso, foram colocados (4 fêmeas e 1 macho) em gaiolas coletivas de polipropileno medindo 37,0 x 31,0 x 16,0 cm com tampas de material galvanizado, e a gestação foi confirmada pela presença de espermatozóides no esfregaço vaginal. As ratas foram separadas aleatoriamente de acordo com a presença ou não de prenhez e se receberam tratamento com *P. ostreatus*. Nesta fase, os ratos foram alojados sozinhos em gaiolas coletivas de polipropileno medindo 37,0 x 31,0 x 16,0 cm.

Setenta e seis ratas Wistar fêmeas foram separadas em quatro grupos denominados a seguir:

I. Grupo **não prenhe salina** (**NPS**): ratas virgens tratadas com solução salina 0,9% do 1º ao 15º dia.

II. Grupo **não prenhe cogumelo** (**NPC**): ratas virgens tratadas com o extrato do *P. ostreatus* (100 mg/kg/dia) do 1º ao 15º dia.

III. Grupo **prenhe salina** (**PS**): ratas prenhes tratadas com solução salina 0,9% do 1º ao 15º dia da prenhez.

IV. Grupo **prenhe cogumelo** (**PC**): ratas prenhes tratadas com o extrato do *P. ostreatus* (100 mg/kg/dia) do 1º ao 15º dia da prenhez.

A dose de 100 mg/kg foi escolhida com base em estudos que avaliaram o uso de outras espécies de cogumelos que não causavam dano hepático em ratos e não alteravam o desenvolvimento dos embriões e fetos [18-19].

Os animais receberam água e ração comercial (Labina®, São Paulo, Brasil) ad libitum. A temperatura ambiente foi mantida em aproximadamente 25°C, com umidade relativa do ar de 55% e ciclo de luz de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

3.5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Os ratos foram pesados uma vez por semana e a ingestão alimentar foi registrada três vezes por semana. No final do período experimental, um grupo de ratos foi anestesiado com pentobarbital sódico intraperitoneal (1 g/kg de peso corporal) e sacrificado por decapitação, e amostras de tecido pancreático foram coletadas e devidamente preservadas para análise

histológica. Outro grupo foi submetido ao teste oral de tolerância à glicose no 14º dia de tratamento, e no 15º dia os ratos foram anestesiados para coleta de sangue por punção cardíaca para determinação do perfil bioquímico. Posteriormente, foram decapitados para excisão e pesagem dos órgãos (coração, rim, fígado, pâncreas e tecido adiposo) e fetos. A eutanásia ocorreu no período da manhã (8h) e o teste oral de tolerância à glicose no período da tarde (14h). Como não foi possível avaliar todas as variáveis no mesmo animal, o número de experimentos individuais variou entre os grupos.

3.5.1 Teste oral de tolerância à glicose

Após 8 h de jejum, os ratos tiveram a extremidade da cauda seccionada para determinação da glicemia de jejum e insulinemia (tempo 0). Em seguida, uma solução de glicose a 20% foi administrada por gavagem na dose de 2,0 g de glicose/kg de peso corporal, e os níveis de glicose no sangue e insulinemia foram determinados em 30, 60 e 120 minutos. Os níveis de glicose no sangue foram determinados usando um glicosímetro (glicômetro Accu-Chek) e a insulina foi determinada usando um kit comercialmente disponível (kit ELISA de insulina de rato/camundongo, EZRMI-13K, Millipore, EUA). As respostas glicêmicas e insulinêmicas durante o teste oral de tolerância à glicose foram calculadas estimando a área sob as curvas de glicose e insulina usando o método trapezoidal (20). A sensibilidade à insulina foi avaliada usando a razão glicose no sangue/insulinemia 120 min após o teste oral de tolerância à glicose, e a função das células β foi avaliada usando HOMA-B (*Homeostasis Model Assessment-B*), que foi obtido usando a seguinte equação [115]:

$$\text{HOMA-B} = 20 \times \text{insulina} \div (\text{glicemia} - 3{,}5).$$

3.5.2 Coleta de sangue, eutanásia, colheita de órgãos e determinações bioquímicas e hormonais

As amostras de sangue coletadas por punção cardíaca foram acondicionadas em tubos sem aditivos/anticoagulantes (BD Vacu-tainer®, Becton e Dickinson, Brasil) e centrifugadas por 20 min a 2.465 xg. Após laparotomia mediana, os tecidos foram excisados e pesados. As amostras de soro e tecido foram armazenadas a -80 °C. Foram utilizados kits comerciais (Wiener Lab Group, Brasil) para a determinação de albumina, proteína total, uréia, creatinina, ácido úrico, alanina transaminase, aspartato transaminase, fosfatase alcalina e lactato desidrogenase, proteína C reativa ultrassensível (US- PCR), triacilglicerol, colesterol total, HDL-colesterol, ferro sérico e a capacidade de ligação do ferro no soro. O valor da transferrina foi obtido pela seguinte equação: capacidade total de ligação do ferro x 0,7.

3.5.3 Processamento histológico

O tecido pancreático foi fixado em solução de paraformaldeído a 4% por 24 horas a 4 °C, desidratado em concentrações crescentes de etanol, clarificado em xileno e embebido em parafina em processador histológico (MTP 100, Slee, Mainz, Alemanha). O tecido foi seccionado em série com espessura de 3 μm usando um micrótomo (RM2125, Leica Biosystems Nussloch, Alemanha) e então montado em lâminas com superfície adesiva. Dez cortes sequenciais do pâncreas foram desparafinizados em estufa a 60 °C por 2 h, seguido de imersão em xileno e concentração decrescente de etanol. Essas lâminas foram reidratadas e coradas com hematoxilina e eosina para determinação das regiões pancreáticas em microscópio de luz com aumento de 5 × (Axio Scope A1, Zeiss, Oberkochen, Alemanha). As regiões pancreáticas foram utilizadas para a determinação das massas de células β e α, conforme descrito anteriormente [116].

Para imunofluorescência, após a recuperação do antígeno a 70 °C por 1 h usando tampão citrato (pH 6,0), os cortes foram bloqueados com albumina sérica a 5% e incubados durante a noite a 4 °C com anticorpos primários. Foi utilizado anticorpo policlonal anti-insulina de cobaia (Dako, Carpinteria, EUA; A0564; 1:200) ou anticorpo policlonal anti-glucagon de coelho (Dako, Carpinteria, EUA; A0565; 1:200). As seções foram subsequentemente incubadas por 1 h em temperatura ambiente com um anticorpo secundário apropriado (Alexa Fluor AF-555 anti-rato, Alexa Fluor 647 anti-cobaia IgG). O dicloridrato de 4',6-Diamidino-2'-fenilindol (Sigma–Aldrich, USA, D9564, 1: 3000) foi usado como marcador do núcleo celular. As diluições e métodos de anticorpos foram previamente testados e validados.

A proliferação de células endócrinas pancreáticas foi obtida usando análise de Feulgen. Em resumo, os cortes foram desparafinizados em xilol, reidratados com soluções alcoólicas em concentrações decrescentes e enxaguados em água destilada. As lâminas foram hidrolisadas por imersão em HCl 1 N a 60 °C por 8 minutos e depois enxaguadas em água destilada. Em seguida, os cortes foram colocados no reagente de Schiff por 15 a 30 minutos em temperatura ambiente em local escuro. As lâminas foram lavadas três vezes em solução de bissulfito por 15 segundos. Por fim, as lâminas foram lavadas em água corrente por 2 minutos, contracoradas com fast green (0,01 g em 100 ml de álcool 95%) e montadas com lamínulas. As células endócrinas coradas com Feulgen foram identificadas e contadas nas seções do pâncreas usando o software Axiovision.

3.5.4 Morfometria

Pelo menos 10 campos de cada seção foram analisados para fazer medições morfométricas usando um microscópio (Axio Scope A1, Zeiss, Alemanha). A captura e análise das imagens foram realizadas por um observador cego. Para determinar as áreas de ilhotas, células α e células β, seções pancreáticas inteiras coradas para insulina foram analisadas em ampliação de 20x usando um microscópio (Axio Scope A1, Zeiss, Alemanha). Uma imagem em mosaico da seção de tecido foi gerada usando o software AxioVision (versão 4.8.2, Zeiss). Usando o software AxioVision, as áreas do pâncreas que foram coradas positivamente para insulina ou glucagon foram quantificadas digitalmente.

As áreas relativas das células α e β foram calculadas usando a razão das áreas das células α e β para a área do pâncreas. A área relativa das ilhotas foi obtida pela razão entre a área das ilhotas e a área total do tecido pancreático e multiplicando o resultado por 100. As massas das ilhotas e das células α e β foram calculadas multiplicando o volume total das ilhotas e células α e β (o produto da soma de todas as ilhotas ou células α ou β e a área total do pâncreas) pelo peso do pâncreas. Os tamanhos das células α e β foram obtidos dividindo a área das células α e β pelo número de células α e β. O conteúdo de insulina e glucagon foi determinado medindo a intensidade de fluorescência.

3.5.5 Análise estatística

O número de ratos utilizados foi determinado pelo método da equação de recursos [23]. Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. O teste de Levene foi inicialmente aplicado para verificar a homogeneidade das variâncias. Os resultados com variâncias heterogêneas e sem distribuições normais foram transformados (logarítmicos - Log10 ou Ln da variável) para correção de heterogeneidade ou anormalidade. Em seguida, os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) de dois fatores (estado fisiológico e tratamento com *P. ostreatus*). Quando necessário, essas análises foram complementadas pelo teste de comparação múltipla de médias HSD de Tukey. O desempenho reprodutivo e o peso líquido materno foram analisados usando um teste t de Student não pareado. O nível de significância foi estabelecido em $P<0,05$. Para a análise dos resultados, foi utilizado o programa "Statistic for Windows" (versão 4.3, 1993, StatSoft, Inc., Tulsa, OK, EUA).

4 RESULTADOS

De acordo com a Tabela 1, o peso corporal inicial e os pesos absoluto e relativo do pâncreas, coração e rim não diferiram entre os grupos. O ganho de peso e os pesos absoluto e relativo do tecido adiposo gonadal foram maiores nos grupos gestantes do que nos grupos não gestantes ($F_{1,33}=13,27$, $p<0,0009$; $F_{1,30}=13,00$; $p<0,0011$; e $F_{1,30}=7,25$, $p<0,0115$,

respectivamente). O peso corporal final foi maior em ratas grávidas do que em ratas não grávidas ($F_{1,33}$=27,14, p<0,0001) e menor em ratas tratadas com cogumelos do que em ratas tratadas com solução salina ($F_{1,33}$=4,38, p<0,0441). O consumo alimentar foi menor no grupo NPC do que no grupo NPS *(*p<0,0177) e foi semelhante nos grupos PC e PS. Os pesos absoluto e relativo do fígado foram maiores no grupo PS do que no grupo NPS (p<0,0035 e p<0,0401, respectivamente), semelhantes nos grupos PC e NPC e menores no grupo PC do que no grupo PS (p <0,0277 e p<0,0360, respectivamente).

A Tabela 2 descreve os resultados dos perfis bioquímicos séricos dos ratos avaliados. A concentração sérica de proteínas totais foi menor nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com salina ($F_{1,25}$=6,70, p<0,0159). Albumina e aspartato aminotransferase não diferiram entre os grupos. A alanina aminotransferase foi semelhante nos grupos PS e NPS e maior no grupo PC do que nos grupos NPC (p<0,001), PS (p<0,0040) e NPS (p<0,0009). A fosfatase alcalina foi menor no grupo PC do que no grupo NPC (p<0,005) e não diferiu entre os grupos PS e NPS. A lactato desidrogenase foi menor nos grupos grávidas do que nos grupos não grávidas ($F_{1,25}$=4,69, p<0,040), bem como nos ratos tratados com cogumelos em comparação com os ratos tratados com solução salina ($F_{1,25}$=5,35, p <0,0293). A creatinina foi semelhante entre os grupos, mas a ureia e o ácido úrico foram menores nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com solução salina ($F_{1,25}$=7,14, p<0,0131 e $F_{1,25}$=21,56, p<0,0001, respectivamente). O triacilglicerol sérico foi maior nos grupos grávidas do que nos grupos não grávidas ($F_{1,25}$=5,98, p<0,0218) e menor nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com solução salina ($F_{1,25}$=9,90, p<0,0042) . O colesterol total e o HDL foram maiores no grupo NPS do que nos grupos NPC, PC e PS (p<0,0002 e p<0,0005; p<0,0001 e p<0,0001; p<0,0001 e p<0,0002, respectivamente). Essas variáveis não diferiram nos grupos NPC e PC. Os resultados da US-PCR foram semelhantes nos grupos NPC e PC e maiores no grupo PS do que nos grupos NPS e PC (p<0,0008; p<0,006003, respectivamente). A concentração de transferrina foi menor nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com solução salina (NPS=365±51 mg/dL, n=8; PS=343±47 mg/dL, n=3; NPC= 280±22 mg/dL, n=4; 254±11 mg/dL, n=4; $F_{1,25}$=19,32, p<0,0005).

As Figuras 1A e 1B mostram as curvas glicêmicas, e as Figuras 1C e 1D mostram as curvas insulinêmicas dos grupos tratados com solução salina e tratados com cogumelos, respectivamente, durante o teste oral de tolerância à glicose. As áreas sob as curvas de glicose dos grupos NPC e PC não diferiram, mas a do grupo PS foi menor que a do grupo NPS (p<0,0003) (Figura 1E). As áreas sob as curvas de insulina dos grupos de grávidas eram maiores do que as dos grupos de não grávidas ($F_{1,18}$=12,70, p<0,002), e as dos grupos tratados com cogumelos eram menores do que as dos grupos tratados com solução salina ($F_{1,18}$=11,23,

p<0,003) (Figura 1F). O valor do índice de sensibilidade à insulina (Figura 1G) foi menor nos grupos grávidas do que nos grupos não grávidas ($F_{1,18}$=36,18, p<0,0000) e maior nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com solução salina ($F_{1,18}$ =46,59, p<0,000). O HOMA-B foi semelhante nos grupos NPS e NPC e menor nos grupos PC (p<0,0078), NPC e NPS (p<0,00018) do que no grupo PS (Figura 1 H).

De acordo com as Figuras 2A, 2C e 2D, as áreas relativas das ilhotas pancreáticas foram maiores nos grupos gestantes do que nos grupos não gestantes ($F_{1,12}$=7,30, p<0,0193; $F_{1,12}$=11,62, p<0,0052; $F_{1,12}$ =5,68, p<0,0345, respectivamente), bem como nos grupos tratados com cogumelos em comparação com os grupos tratados com solução salina ($F_{1,12}$=10,35, p<0,0074; $F_{1,12}$=10,61, p<0,0069; $F_{1,12}$= 9,53, p<0,0094, respectivamente). As ilhotas (Figura 2B), as células α (Figura 2D) e as massas de células β (Figura 2 F) também foram maiores nos grupos de grávidas do que nos grupos de não grávidas ($F_{1,12}$=9,59, p<0,0093; $F_{1,\ 12}$= 17,22, p<0,0013; $F_{1,12}$=7,39, p<0,0187, respectivamente), bem como nos grupos tratados com extrato de cogumelo em comparação aos tratados com solução salina ($F_{1,12}$=19,98, p<0,0008; $F_{1,12}$=28,72, p<0,0002; $F_{1,12}$=18,71, p<0,0010, respectivamente).

Tabela 1. Parâmetros somáticos, ingestão alimentar e pesos de órgãos de ratas não prenhes tratadas com salina (NPS), prenhes tratadas com salina (PS), não prenhes tratadas com cogumelo (NPC) e prenhes tratadas com cogumelo (PC)

Variáveis	Grupos			
	NPS	PS	NPC	PC
Peso corporal (g)				
Inicial	219,0±13,4 (11)	222,1±20,5 (9)	207,6±20,2 (9)	225,5±8,6 (8)
Final	227,8±15,0 (11)	258,6±22,7$^{\#}$ (9)	218,6±8,3* (9)	244,9±17,5$^{*\#}$ (8)
Ganho de peso (g)	8,8±4,6 (11)	36,6±22,2$^{\#}$ (9)	11,0±15,3 (9)	19,4±14,1$^{\#}$ (8)
Ingestão alimentar (g)	244,6±29,8^{a} (11)	212,3±37,3^{ab} (9)	186,1±59,5^{b} (9)	238,6±21,2^{ab} (8)
Pâncreas				
(g)	0,49±0,13 (11)	0,59±0,21 (9)	0,63±0,23 (7)	0,64±0,28 (7)
(g/100g peso corporal)	0,21±0,06 (11)	0,23±0,10 (9)	0,29±0,11 (7)	0,26±0,12 (7)
Fígado				
(g)	7,8±0,8^{b} (11)	10,5±1,4^{a} (9)	8,5±2,3^{ab} (7)	8,2±1,5^{b} (7)
(g/100g peso corporal)	3,4±0,3^{b} (11)	4,1±0,6^{a} (9)	3,9±1,1^{ab} (7)	3,3±0,7^{b} (7)
Tecido adiposo gonadal				
(g)	3,6±1,0 (11)	4,6±1,3$^{\#}$ (9)	2,7±0,6 (7)	4,4±1,1$^{\#}$ (7)
(g/100g peso corporal)	1,6±0,4 (11)	1,8±0,6$^{\#}$ (9)	1,2±0,2 (7)	1,8±0,5$^{\#}$ (7)
Coração				
(g)	0,88±0,10 (11)	0,91±0,11 (9)	0,85±0,06 (7)	0,96±0,09 (7)
(g/100g peso corporal)	0,39±0,04 (11)	0,35±0,04 (9)	0,39±0,02 (7)	0,39±0,04 (7)
Rim				
(g)	1,8±0,1 (11)	1,9±0,3 (9)	1,7±0,2 (7)	1,7±0,1 (7)
(g/100g peso corporal)	0,78±0,06 (11)	0,75±0,11 (9)	0,79±0,11 (7)	0,73±0,07 (7)

Valores expressos em média ± desvio padrão para número de ratas entre parênteses. $^{\#}$Indica diferença em relação a ratas não prenhes (ANOVA two-way, p<0,05). *Indica diferença em comparação com ratas tratadas com solução salina (ANOVA de duas vias, p<0,05). Letras diferentes indicam diferenças significativas (teste HSD de Tukey, p<0,05)

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos séricos de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS), prenhes tratadas com solução salina (PS), não prenhes tratadas com cogumelo (NPC) e prenhes tratadas com cogumelo (PC)

Variáveis	Gruposs			
	NPS (9)	PS (7)	NPC (7)	PC (6)
Proteínas totais (g/dL)	7,3±0,4	7,8±0,1	7,0±0,5*	7,2±0,7*
Albumina (g/dL)	4,2±0,1	4,3±0,06	4,1±0,1	4,2±0,3
Aspartato aminotransferase (U/L)	201,5±81,6	173,2±39,4	133,5±29,9	203,3±35,7
Alanina aminotransferase (U/L)	59,0±7,7b	61,8±6,0b	59,5±7,6b	78,8±9,3a
Fosfatase alcalina (U/L)	403,2±98,7ab	615,0±161,3a	541,3±200,6a	300,5±108,5b
Lactato desidrogenase (U/L)	395,2±125,9	309,1±74,3#	304,3±74,8*	246,0±25,9#*
Ureia (mg/dL)	46,7±6,1	50,4±2,2	42,1±4,7*	43,6±8,3*
Creatinina (mg/dL)	0,50±0,04	0,51±0,009	0,48±0,03	0,49±0,08
Ácido úrico (mg/dL)	2,9±0,6	3,0±0,5	1,8±0,3*	2,2±0,7*
Triacilglicerol (mg/dL)	110,5±45,8	152,2±23,8#	81,1±18,9*	101,6±35,5*#
Colesterol total (mg/dL)	89,4±15,7a	41,1±9,1c	60,0±10,7b	46,9±7,4bc
HDL (mg/dL)	53,1±9,3a	22,4±5,6c	33,1±5,6b	31,5±4,6bc
PCR-ultrasensível (mg/L)	0,33±0,10b	0,56±0,11a	0,46±0,09ab	0,36±0,08b

Valores expressos em média ± desvio padrão para número de ratas entre parênteses. #Indica diferença em relação a ratas não prenhes (ANOVA two-way, $p<0,05$). *Indica diferença em comparação com ratas tratadas com solução salina (ANOVA de duas vias, $p<0,05$). Letras diferentes indicam diferenças significativas (teste HSD de Tukey, $p<0,05$).

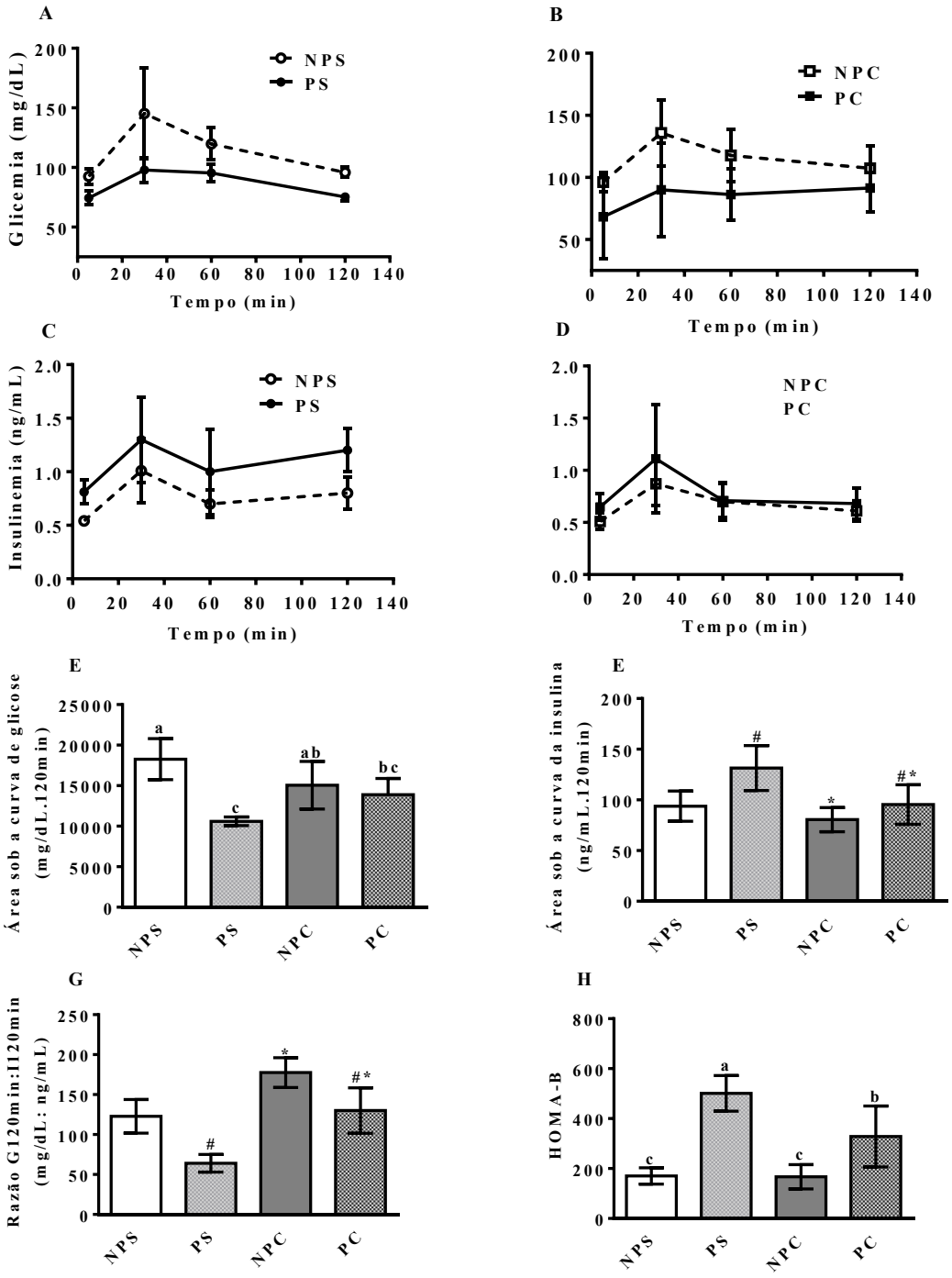

Figura 1. Curvas glicêmicas (A e B), curvas insulinêmicas (C e D), áreas sob as curvas glicose (E) e insulina (F) durante o teste oral de tolerância à glicose, relação glicose 120 min:insulina 120 min (G) e valores HOMA-B (H) de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS, n = 4 ratas), prenhes tratadas com solução salina (PS, n = 4 ratas), não prenhes tratadas com cogumelos (NPC, n = 4 ratas) e prenhes tratadas com cogumelo (PC, n=4 ratas). Os valores são expressos como média ± desvio padrão. [#]Indica diferença em relação a ratas não prenhes (ANOVA two-way, p<0,05). [*]Indica uma diferença em comparação com ratos tratados com solução salina (ANOVA de duas vias, p<0,05). Letras diferentes indicam diferenças significativas (teste HSD de Tukey, p<0,05).

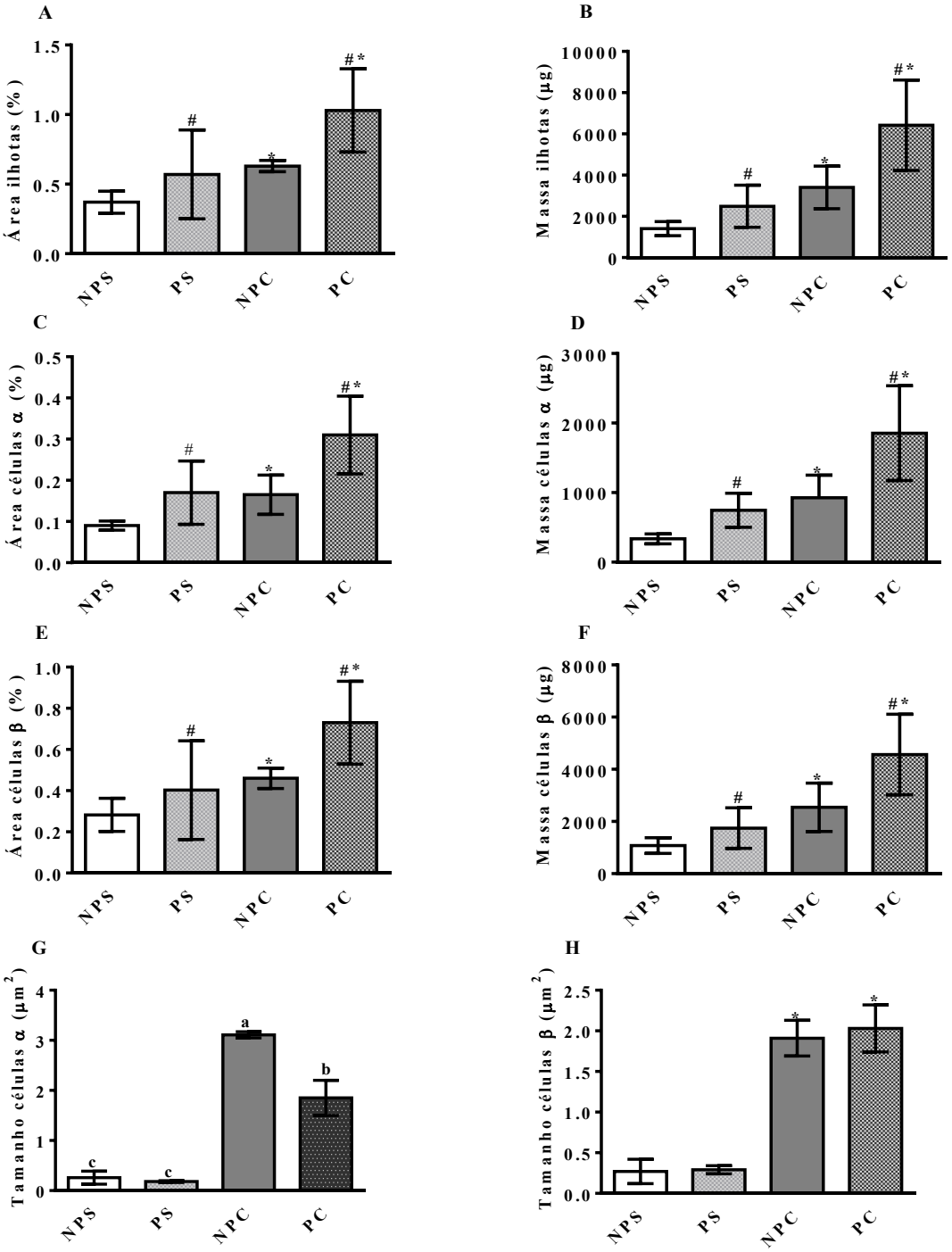

Figura 2. Áreas relativas das ilhotas (A), células α (C) e células β (E); massa de ilhotas (B), células α (D) e células β (F); tamanho das células α (G) e de células β (H) de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS, n = 4 ratos), prenhes tratadas com solução salina (PS, n = 4 ratos) não prenhes tratadas com cogumelos (NPC, n=4 ratos) e prenhes tratadas com cogumelos (PC, n=4 ratos). Os valores são expressos como média ± desvio padrão. #Indica diferença em relação a ratas não prenhes (ANOVA two-way, p<0,05). *Indica uma diferença em comparação com ratas tratados com solução salina (ANOVA de duas vias, p<0,05). Letras diferentes indicam diferenças significativas (teste HSD de Tukey, p<0,05).

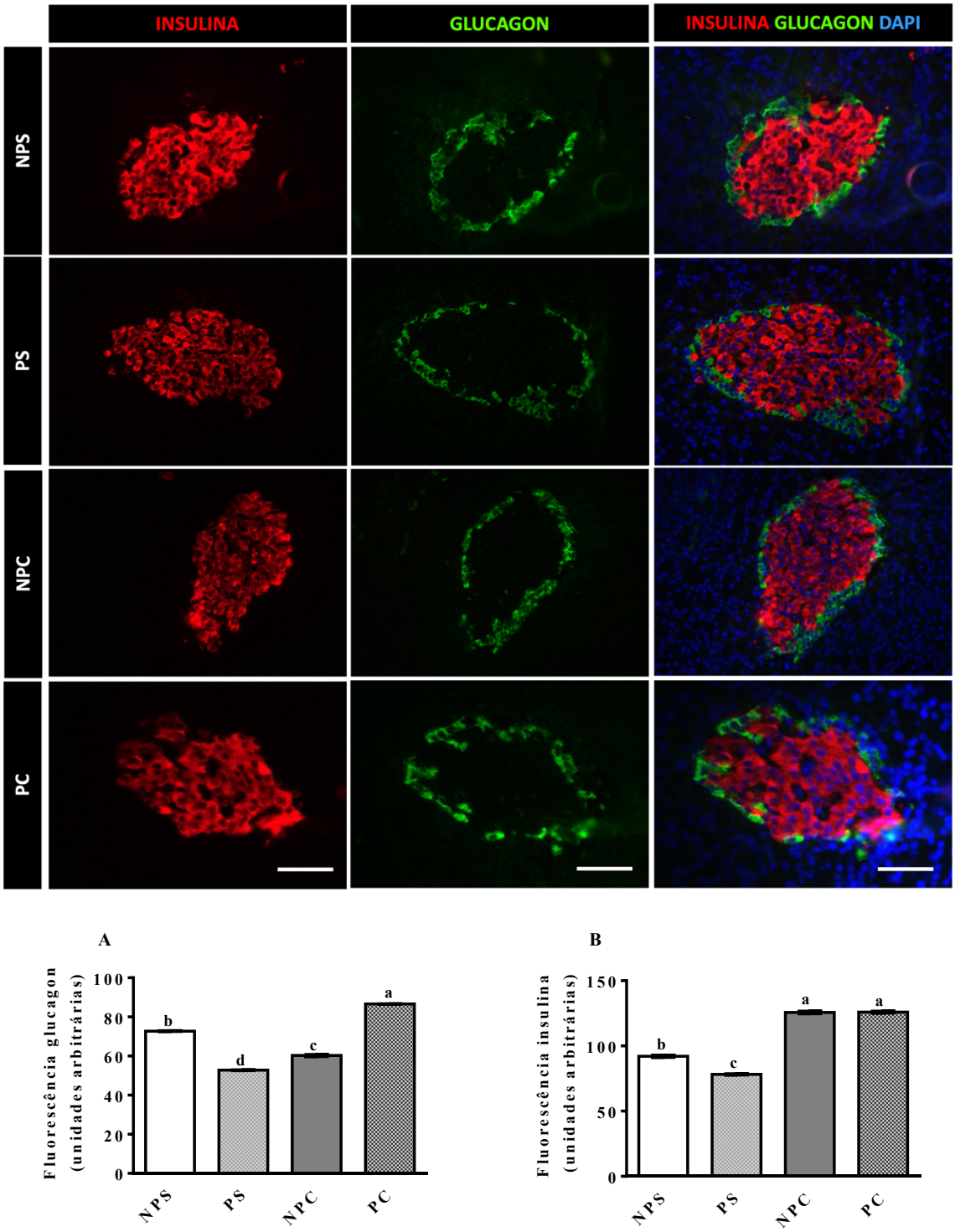

Figura 3. Imagens representativas de ilhotas pancreáticas mostrando fluorescência da insulina para células β (vermelho) e glucagon para células α (verde). Os núcleos foram corados com DAPI (azul). Intensidade de fluorescência do glucagon (A) e da insulina (B) em ilhotas de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS, n=4 ratas), prenhes tratadas com solução salina (PS, n=4 ratas), não prenhes tratadas com cogumelos (NPC, n=4 ratas) e prenhes tratadas com cogumelos (PC, n=4 ratos). Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas (teste HSD de Tukey, p<0,05).

O tamanho da célula α foi maior no grupo NPC do que nos grupos PC (p<0,0002), NPS (p<0,0001) e PS (p<0,0001) e foi semelhante nos grupos NPS e PS (Figura 3A). O tamanho das

células β foi maior nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com solução salina ($F_{1,12}$=287,64, p<0,000) (Figura 3B). A intensidade da fluorescência do glucagon foi menor no grupo PS do que no grupo NPS (p<0,0001) e maior no grupo PC do que no grupo NPC (p<0,0001). No grupo NPC, a intensidade da fluorescência do glucagon foi menor do que no grupo NPS (p<0,0001) e, em contraste, foi maior no grupo PC do que no grupo PS (p<0,0001) (Figura 3C e Figura Complementar 4). A intensidade da fluorescência da insulina foi semelhante nos grupos PC e NPC e menor no grupo PS do que no grupo NPS (p<0,0001). No grupo NPC, a intensidade da fluorescência da insulina foi maior em comparação ao grupo NPS (p<0,0001), assim como no grupo PC em comparação ao grupo PS (p<0,0001) (Figura 3D e Figura 4 complementar). A frequência de células endócrinas nas fases G1, S e G2 foi maior nos grupos grávidas do que nos grupos não grávidas ($F_{1,15}$=6,90, p<0,0191) e menor nos grupos tratados com cogumelos do que nos grupos tratados com solução salina ($F_{1,15}$=9,11, p<0,0086) (Figura 3E e Figura Complementar 5).

A tabela 3 apresenta uma avaliação do desempenho reprodutivo dos ratos tratados com solução salina e com o extrato aquoso de cogumelo. O número e peso dos fetos e o peso líquido materno não diferiram entre os grupos.

Tabela 3. Número de fetos, peso médio da ninhada e peso líquido materno de ratas prenhes tratadas com solução salina (PS) e ratas prenhes tratadas com extrato aquoso de cogumelo (PC)

Variáveis	Grupos	
	PS (14)	PC (14)
Número de fetos	10,2±21,7	11,4±1,5
Peso dos fetos (g)	0,75±0,09	0,81±0,16
Peso materno líquido (g)	251,8±20,6	241,5±18,3

Valores expressos como média ± desvio padrão para o número de ratas mostrado entre parênteses.

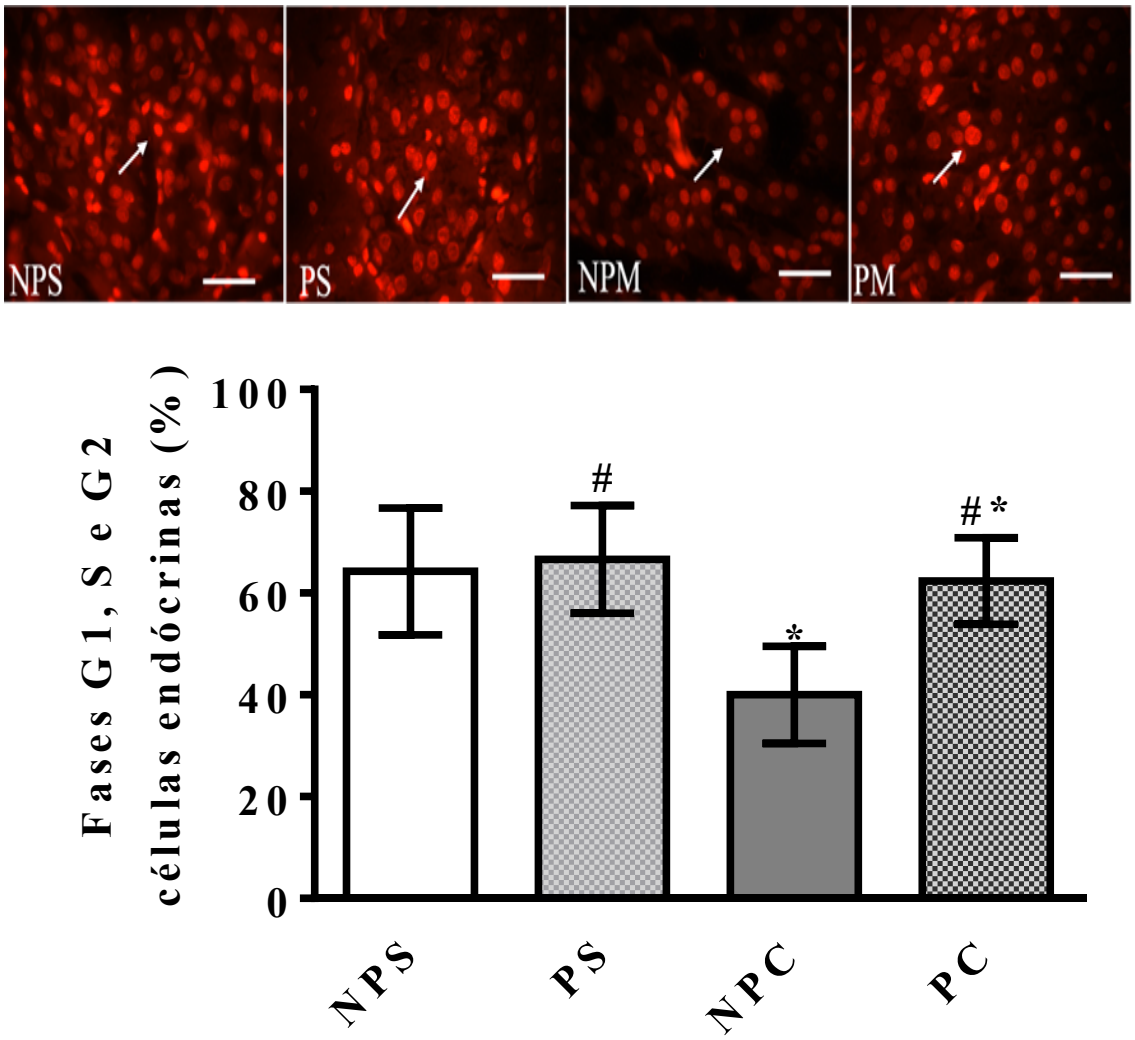

Figura 4. Imagens representativas mostrando células endócrinas em proliferação (fases G1, S e G2) imunomarcadas em vermelho em inserções de FISH. Abaixo a frequência de células endócrinas nas fases G1, S e G2 de ilhotas de ratas não prenhes tratadas com solução salina (NPS, n = 4 ratas), prenhes tratadas com solução salina (PS, n = 4 ratas) não prenhes tratadas com cogumelos (NPC, n = 4 ratas) e prenhes tratadas com cogumelos (PC, n=4 ratas) (B). Os valores são expressos como média ± desvio padrão. #Indica diferença em relação a ratas não prenhes (ANOVA two-way, p<0,05). *Indica uma diferença em comparação com ratos tratados com solução salina (ANOVA de duas vias, p<0,05).

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos de *P. ostreatus* nas adaptações estruturais das ilhotas pancreáticas na fase inicial da gestação (15 dias). Nesta fase, predominantemente anabólica, as células β pancreáticas se expandem devido à hipertrofia e hiperplasia e aumentam sua capacidade secretora para garantir a homeostase da glicose na fase tardia da gravidez [15]. Este estudo mostrou um aumento nas áreas relativas, nas massas de ilhotas, nas células α e β e no tamanho das células α e β, porém uma redução na insulinemia em ratas prenhes tratadas com *P. ostreatus*.

Como esperado, o aumento da trigliceridemia, uma condição típica na gravidez normal, foi observado no presente estudo, independentemente do tratamento com *P. ostreatus*. Os triglicerídeos servem como um depósito de ácidos graxos da dieta materna, e estes são convertidos em corpos cetônicos no fígado materno para economizar glicose e garantir seu suprimento para o crescimento e desenvolvimento fetal [117-118]. Além disso, foram observadas concentrações reduzidas de lactato desidrogenase, mas essa alteração, embora rara, geralmente não é prejudicial [119].

Independentemente do estado de gravidez, o tratamento com *P. ostreatus* reduziu as concentrações séricas totais de proteínas. As proteínas séricas totais compreendem duas frações principais: a albumina, que constitui aproximadamente 64%, e as globulinas, que correspondem a aproximadamente 36% das proteínas séricas totais [120]. Como a concentração de albumina sérica não se alterou neste estudo, é possível que a redução de proteínas totais reflita a diminuição de globulinas. Essa hipótese é reforçada pelos valores reduzidos de transferrina sérica (subfração β-globulina) observados nos grupos tratados com *P. ostreatus*. Em modelo animal, a transferrina modifica a cascata de coagulação, e sua superexpressão está associada a um risco aumentado de trombose e formação de lesão aterosclerótica além da redução da transferrina, enquanto sua neutralização com um anticorpo antitransferrina está relacionada à redução da formação de lesão aterosclerótica e coagulabilidade [121].

Além disso, o tratamento com *P. ostreatus* reduziu trigliceridemia, colesterolemia e níveis de HDL-colesterol, corroborando as propriedades hipolipêmicas de cogumelos ostra em ratos hipercolesterolêmicos e camundongos diabéticos [56,69,122]. O efeito benéfico sobre o perfil lipídico sérico tem sido atribuído ao aumento da excreção total de lipídios e colesterol nas fezes [69,122], ao conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, especialmente os ácidos eicosapentaenóico e docosahexaenóico [123] e à atividade dos polissacarídeos presentes no extrato de cogumelo que modulam positivamente o perfil lipídico [56,124]. Esses resultados

sugerem que o tratamento com *P. ostreatus* pode atenuar a formação de lesões ateroscleróticas e a formação de trombos.

O tratamento com *P. ostreatus* também reduziu as concentrações séricas de lactato desidrogenase. Essa enzima é o marcador sanguíneo mais precoce de hipóxia e estresse oxidativo, e sua expressão e atividade são elevadas em placentas de mães com pré-eclâmpsia e eclâmpsia [125-127]. Portanto, *P. ostreatus* pode ser uma alternativa para a prevenção de distúrbios hipertensivos da gravidez, como pré-eclâmpsia e eclâmpsia, complicações comuns que afetam aproximadamente 10% das gestações [128].

A redução nas concentrações séricas de ácido úrico e ureia observada nos ratos tratados com *P. ostreatus* também foi observada em ratos hiperuricêmicos tratados com *Agrocybe aegerita* e *Ganoderma applanatum* [129-130] e em camundongos BALB/c diabéticos induzidos por aloxana [71] e ratos Wistar com hiperoxalúria induzida por urolitíase [131] tratados com *P. ostreatus*. Nesses casos, o efeito foi mediado pela elevação das secreções úricas urinárias, diminuição da absorção de purinas no trato gastrointestinal [129-130] e aumento da depuração de uréia [131].

Inesperadamente, ratas grávidas tratadas com *P. ostreatus* exibiram aumento da alanina aminotransferase sérica e redução das concentrações de fosfatase alcalina. O aumento da fosfatase alcalina é observado durante a gravidez normal, sendo o valor máximo atingido no terceiro trimestre [132]. A redução da fosfatase alcalina parece predizer o retardo do crescimento intra-uterino devido à massa e função inadequadas da placenta [133-134]. Além disso, a elevação da concentração sérica de alanina aminotransferase no início da gravidez tem sido associada ao risco de desenvolver pré-eclâmpsia, diabetes gestacional no final da gravidez e macrossomia [135-137]. Considerando a baixa concentração de lactato desidrogenase, os resultados do teste de tolerância à glicose, a PCR-US reduzida, indicando aumento da sensibilidade à insulina, e o peso fetal médio semelhante nos grupos tratados com salina e cogumelo, é razoável supor que *P. ostreatus* não comprometeu a saúde materna e fetal, pelo menos nesta fase da gestação.

A esperada adaptação da estrutura do pâncreas endócrino em resposta à gravidez foi observada neste estudo, tendo em vista o aumento das áreas e massas das ilhotas e células, bem como a proliferação de células endócrinas pancreáticas. A expansão compensatória da massa celular foi observada em ratas grávidas em resposta ao aumento da demanda de insulina devido à resistência tecidual ao hormônio, possivelmente decorrente de hormônios somatolactógenos elevados, peso corporal e respostas inflamatórias sistêmicas de baixo grau (evidenciadas pelo aumento da PCR-US), que são conhecidos por induzir resistência à insulina [83,109,138] e promover hiperplasia e hipertrofia de células endócrinas pancreáticas [110-139]. No entanto,

esses argumentos não explicam o aumento da massa de células endócrinas pancreáticas observada nos grupos tratados com *P. ostreatus*, uma vez que esses animais apresentavam menor peso corporal e eram mais sensíveis à insulina, tendo em vista o aumento da relação glicemia/insulina aos 120 min (índice de sensibilidade à insulina) e a área reduzida sob a curva de insulina durante o teste oral de tolerância à glicose. É razoável supor que, nesse caso, o aumento das massas de células endócrinas pancreáticas e a maior sensibilidade à insulina resultaram da ação de substâncias bioativas, como os polissacarídeos presentes nos corpos de frutificação dos cogumelos. Estudos de outras espécies de cogumelos mostraram que os mecanismos envolvidos na melhoria da resistência à insulina incluem níveis aumentados de transportador de glicose 4 [140] e reduções na liberação de fatores inflamatórios [141].

Em relação ao efeito na morfometria das ilhotas pancreáticas, pelo menos em ratos diabéticos, as substâncias bioativas presentes nos cogumelos parecem suprimir a formação e acúmulo de potenciais indutores de dano celular e ativar a sinalização pró-sobrevivência e proliferativa de células β [142-143]. Por outro lado, a atividade anticancerígena de compostos bioativos originários de cogumelos tem sido atribuída ao seu efeito inibitório na proliferação de células cancerígenas [144]. É importante ressaltar que, no presente estudo, observamos redução na proporção de células endócrinas nas fases G1, G2 e S do ciclo celular (indicando atenuação da proliferação celular), hipertrofia das células α e β e aumento do conteúdo de glucagon e insulina nos ratos tratados com extrato aquoso de *P. ostreatus*. O teor elevado dos hormônios parece ter resultado do aumento da massa e também pode ser consequência do aumento da viabilidade celular e/ou da biossíntese de glucagon e insulina. Para a hipertrofia das células endócrinas, é possível que as substâncias bioativas presentes no corpo de frutificação de *P. ostreatus* tenham promovido o aumento da síntese proteica por interferirem positivamente na via de sinalização do crescimento celular.

Apesar do aumento da massa celular, a capacidade funcional foi reduzida em ratas prenhes tratadas com *P. ostreatus* em função dos valores do HOMA-B. No entanto, esse resultado deve ser analisado com cautela, pois há reciprocidade entre a ação e a secreção da insulina (58) e, a julgar pelo aumento dos valores do índice de sensibilidade e da área sob a curva da insulina durante o teste oral de tolerância à glicose, o tratamento com *P.ostreatus* conferiu maior sensibilidade ao hormônio. Considerando o aumento da massa celular e o aumento da sensibilidade à insulina, é razoável supor que houve um ajuste fisiológico da secreção para manter a homeostase da glicose. Essa suposição é baseada no fato de que uma redução na massa de células β resulta em um aumento significativo na secreção das células remanescentes [153] Além disso, é possível que a diminuição da concentração sérica de insulina decorra do aumento do catabolismo da insulina, uma vez que essa variável é fortemente

determinada não apenas pela taxa de secreção, mas também pelo catabolismo da insulina [153]. Portanto, é necessário realizar mais experimentos para elucidar o efeito de *P. ostreatus* na secreção de insulina.

6 CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o tratamento com *P. ostreatus* durante a fase inicial da gestação em ratas teve efeitos significativos nas adaptações estruturais das ilhotas pancreáticas. Embora tenha sido observado um aumento nas áreas e massas das ilhotas, bem como nas células α e β, houve uma redução na insulinemia. Essas alterações foram acompanhadas por benefícios para o perfil lipídico, como a redução da trigliceridemia, colesterolemia e níveis de HDL-colesterol, sugerindo um potencial efeito hipolipêmico do *P. ostreatus*. Além disso, o tratamento com *P. ostreatus* também apresentou outros efeitos positivos, como a redução nas concentrações séricas de lactato desidrogenase, ácido úrico e ureia, que estão associados a distúrbios hipertensivos da gravidez. Essas descobertas sugerem que o *P. ostreatus* pode ser uma alternativa para a prevenção dessas complicações comuns na gravidez, como a pré-eclâmpsia e a eclâmpsia. Embora tenha havido um aumento na massa celular e uma redução na capacidade funcional das células β pancreáticas, de acordo com os resultados do HOMA-B, foi observado um aumento da sensibilidade à insulina nos animais tratados com *P. ostreatus*. Essa maior sensibilidade pode ter compensado a redução na capacidade funcional, resultando em um ajuste fisiológico da secreção para manter a homeostase da glicose. No entanto, são necessárias investigações adicionais para compreender melhor os efeitos do *P. ostreatus* na secreção de insulina e seu potencial uso terapêutico durante a gestação.

Em suma, este estudo fornece evidências promissoras sobre os efeitos do *P. ostreatus* nas adaptações estruturais das ilhotas pancreáticas durante a fase inicial da gestação. Embora algumas questões permaneçam em aberto, os resultados sugerem que o *P. ostreatus* pode ter potenciais benefícios para a saúde materna e fetal, bem como para o perfil lipídico. No entanto, é necessário realizar mais pesquisas para explorar completamente os mecanismos subjacentes do *P. ostreatus* para que seja possível uma intervenção terapêutica durante a gravidez.

REFERÊNCIAS

[1] DUNDAR, A.; ACAY, H.; YILDIZ, A. Yield performances and nutritional contents of three oyster mushroom species cultivated on wheat stalk. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 19, p. 3497–3501, 2008.

[2] GBOLAGADE, J.; AJAYI, A.; OKU, I.; WANKASI, D. Nutritive value of common wild edible ushrooms from Southern Nigeria. **Global Journal of Biotechnology & Biochemistry**, v. 1, n. 1, p. 16–21, 2006.

[3] SÁNCHEZ, C.; Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 5, p. 1321–1337, 2010. https://doi.org/10.1007/s00253-009-2343-7.

[4] MORAIS, M. H. et al. Note. Production of shiitake mushroom (Lentinus edodes) on lignocellulosic residues. **Food Science and Technology International**, v. 6, n. 2, p. 123–128, 2000. https://doi.org/10.1177/10820132000060020.

[5] SÁNCHEZ, C. Modern aspects of mushroom culture technology. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 64, n. 6, p. 756–62, 2004. https://doi.org/10.1007/s00253-004-1569-7.

[6] OEI, P. *Manual of mushroom cultivation: techniques, species and opportunities for commercial application in developing countries*. 1 ed. Amsterdam, Tool Publications CTA, 1991. p. 249.

[7] ANUSIYA, G.; GOWTHAMA-PRABU, U; YAMINI, N.V; SIVARAJASEKAR, N.; RAMBABU, K.; BHARATH, G; *et al*. A review of the therapeutic and biological effects of edible and wild mushrooms. **Bioengineered**, v. 12, n. 2, p. 11239–11268, 2021. https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2001183.

[8] RAMAN, J.; JANG, K.Y.; OH, Y.L.; OH, M.; IM, J.H.; LAKSHMANAN, H.; *et al*. Cultivation and nutritioal value of prominent Pleurotus spp.: An overview. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 01-14, 2020. https://doi.org/ 10.1080/12298093.2020.1835142.

[9] RÜHL, M.; FISCHER, C.; KÜES, U. Ligninolytic enzyme activities alternate with mushroom production during industrial cultivation of *Pleurotus ostreatus* on wheatstraw-based substrate. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 2, n. 4, p. 478–492, 2008.

[10] SALES-CAMPOS, C. **Aproveitamento de resíduos madeireiros e da agroindústria regional para o cultivo de fungos comestíveis de ocorrência na região amazônica**. 2008. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2008.

[11] ABEYTUNGA, D.T.U. Biological activities of pleurotus mushrooms. *In*: ANDRES, S.; BAUMANN, N. **Mushrooms types, properties and nutrition – Microbiology research advances**. 1 ed. New York, Nova Science Publishers Inc, 2011. p.p. 329–350.

[12] JAYASURIYA, W. J. A. B. et al. Oral hypoglycemic activity of culinary-medicinal mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* (higher basidiomycetes) in normal and alloxan-induced diabetic Wistar rats. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 14, n. 4, p. 347–55, 2012. https//doi.org/10.1615/intjmedmushr.v14.i4.20.

[13] JAYASURIYA, W.J.A.B.; HANDUNNETTI, S.M.; WANIGATUNGE, C.A.; FERNANDO, G.H.; ABEYTUNGA, D.T.U.; SURESH, T.S. Anti-Inflammatory Activity of *Pleurotus ostreatus*, a Culinary Medicinal Mushroom, in Wistar Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, Article ID 6845383, p. 09, 2020. https://doi.org/10.1155/2020/6845383.

[14] JAYASURIYA, W.J.A.B.; WANIGATUNGE, C.A.; FERNANDO, G.H.; ABEYTUNGA, D.T.U.; SURESH, T.S. Hypoglycaemic activity of culinary *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* mushrooms in healthy volunteers and type 2 diabetic patients on diet control and the possible mechanisms of action. **Phytotherapy Research: PTR**, v. 29, n. 2, p. 303–9, 2015. https://doi.org/10.1002/ptr.5255.

[15] MOYCE, B.; DOLINSKY, V. Maternal β-Cell Adaptations in Pregnancy and Placental Signalling: Implications for Gestational Diabetes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 3467, 2018. https//doi.org/10.3390/ijms19113467.

[16] SUN, L.; NIU, Z. A mushroom diet reduced the risk of pregnancy-induced hypertension and macrosomia: a randomized clinical trial. **Food & Nutrition Research**, v. 64, n. 8, 2020. https//doi.org/10.29219/fnr.v64.4451.

[17] CAMARGO, I.F.; CAETANO, E.L.A.; PICLER, T.B.; GERENUTTI, M.; GROTTO, D. Shiitake Culinary-Medicinal Mushroom, Lentinus edodes (Agaricomycetes): Absence of Changes in Maternal Reproductive Performance and Embryofetal DeveloPCent In Vivo. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 22, n. 8, p. 781–791, 2020. https//doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2020035680.

[18] GROTTO, D.; BUENO, D.C.R.; RAMOS, G.K.A.; COSTA, S.R.; SPIM, S.R.S.; GERENUTTI, M. Assessment of the Safety of the Shiitake Culinary-Medicinal Mushroom, Lentinus edodes (Agaricomycetes), in Rats: Biochemical, Hematological, and Antioxidative Parameters. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 18, n. 10, p. 861–870, 2016. http://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.v18.i10.20.

[19] LAURINO, L.F.; VIROEL, F.J.M.; CAETANO, E.; SPIM, S.; PICKLER, T.; ROSA-CASTRO, R.M.; *et al*. *Lentinus edodes* exposure before and after fetus implantation: materno-fetal develoPCent in rats with gestational diabetes mellitus. **Nutrients**, v. 11, n. 11, p. 01-14, 2019. https://doi.org/10.3390/nu11112720.

[20] GUERRERO, R.T., HOMRICH, M.H. *Fungos Macroscópicos Comuns no Rio Grande do Sul: Guia para Identificação*. 1 ed. Porto Alegre, UFRGS, 1999 p. 128.

[21] MILLER, O., MILLER H. *North american mushrooms: a field guide to edible and inedible fungi*. 1 ed. Brisbane, Falcon Guides, 2006. p. 583.

[22] URBEN, A., OLIVEIRA, C. Fungos contaminantes em cultivos de cogumelos comestíveis e medicinais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p. 288, 1998.

[23] EIRA, A.F., MINHONI, M.T.A. *Manual de cultivo do "hiratake" e "shimeji" (Pleurotus spp.)*. 1 ed. Botucatu, FEPAF, 1997. p. 63.

[24] URBEN, A.F. *Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada*. 3 ed. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. p. 272.

[25] ZHANXI, L., ZHANHUA, L. *Junção Technology*. 1 ed. Beijing, China Agricultural Scientech, 2001. p. 252.

[26] CHANG, S.T.; BUSWELL, J.A.; MILES, P.G. *Genetics and breeding of edible mushrooms*. Hong Kong, Gordon and Breach Science, 1993. p. 322.

[27] MATHEUS, D.R.; OKINO, L.K. Utilização de basidiomicetos em processos biotecnológicos. *In*: BONONI, V.L.R.; GRANDI, R.A.P. (Org.). **Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos – noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas**. 1 ed. São Paulo, Instituto de Botânica e Secretaria de Estado de Meio Ambiente, 1998. p.p. 107-139.

[28] TRUFEM, S.F.B. Diversidade no Reino Fungi: Zigomycota. *In*: JOLY, C.A.; BICUDOI, C.E.M. **Biodiversidade do Estado de São Paulo. Síntese do conhecimento ao final do século XX**. 1 ed. São Paulo, FAPESP, 1999. p.p 35-42.

[29] CHANG, S.T., MILES, P.G. *Edible Mushrooms and their cultivation*. 1 ed. Boca Raton, CRC Press, 1989. p. 345.

[30] BARNEY, D.L. Growing mushrooms commercially: risks and opportunities. **University of Idaho – College of Agricultural and Life Sciences**, v. 1997, p. 01-08, 1997.

[31] 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. https://doi.org/10.1007/s00253-002-0930-y.

[32] ERGÖNÜL, P.G.; AKATA, I.; KALYONCU, F.; ERGÖNÜL, B. Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species. **The Scientific World Journal**, v. 2013, Article ID 163964, p. 4, 2013. https://doi.org/10.1155/2013/163964.

[33] SADLER, M. Nutritional properties of edible fungi. **Nutrition Bulletin**, v. 28, n. 3, p. 305–308, 2003. https://doi.org/10.1046/j.1467-3010.2003.00354.x.

[34] KALAČ, P. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 209–218, 2013. https://doi.org/10.1002/jsfa.5960.

[35] REIS, F.S.; BARROS, L.; MARTINS, A.; FERREIRA, I.C.F.R. Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: an inter-species comparative study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 2, p. 191–7, 2012. https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.10.056.

[36] GUILLAMÓN, E.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; LOZANO, M.; D'ARRIGO, M.; ROSTAGNO, M.A.; VILLARES, A.; *et al*. Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases. **Fitoterapia**, v. 81, n. 7, p. 715–23, 2010. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.06.005.

[37] MATTILA, P.; KÖNKÖ, K.; EUROLA, M.; PIHLAVA, J.M.; ASTOLA, J.; VAHTERISTO, L.; *et al*. Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 2343–2348, 2001. https://doi.org/10.1021/jf001525d.

[38] MDACHI, S.J.M.; NKUNYA, M.; NYIGO, V.A.; URASA, I.T. Amino acid composition of some Tanzanian wild mushrooms. **Food Chemistry**, v. 86, n. 2, p. 179–182, 2004. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.030.

[39] OUZOUNI, P.K.; PETRIDIS, D.; KOLLER, W.D.; RIGANAKOS, K.A. Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from west Macedonia and Epirus, Greece. **Food Chemistry**, v. 115, n. 4, p. 1575–1580, 2009. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.014.

[40] RIBEIRO, B.; PINHO, P.G.; ANDRADE, P.B.; BAPTISTA, P.; VALENTÃO, P. Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: a comparative study. **Microchemical Journal**, v. 93, n. 1, p. 29–35, 2009. https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.04.005.

[41] LEBEQUE, Y.; MORRIS, H.J.; BELTRÁN, Y.; GAIME-PERRAUD, I.; MENESES, M.; *et al*. Proximal Composition, Nutraceutical Properties, and Acute Toxicity Study of Culinary-Medicinal Oyster Mushroom Powder, *Pleurotus ostreatus* (Agaricomycetes). **International**

Journal of Medicinal Mushrooms, v. 20, n. 12, p. 1185–1195, 2018. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v20.i12.60.

[42] FOGARASI, M.; SOCACI, S.A.; DULF, F.V.; DIACONEASA, Z.M.; FĂRCAȘ A.C.; TOFANĂ, M.; *et al*. Bioactive Compounds and Volatile Profiles of Five Transylvanian Wild Edible Mushrooms. **Molecules**, v. 23, n. 12, p. 3272, 2018. https://doi.org/10.3390/molecules23123272.

[43] TOLERA, K.D.; ABERA, S. Nutritional quality of Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) as affected by osmotic pretreatments and drying methods. **Food Science and Nutrition**, v. 5, n. 5, p. 989–996, 2017. https://doi.org/10.1002/fsn3.484.

[44] SALES-CAMPOS, C.; ARAUJO, L.M.; MINHORI, M.T.A.; ANDRADE, M.C.N. Physiochemical analysis and centesimal composition of *Pleurotus ostreatus* mushroom grown in residues from the amazon. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 456–461, 2011. https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000200027.

[45] SALES-CAMPOS, C.; OLIVEIRA, L.A.; ARAUJO, L.M.; VAREJÃO, M.J.C.; ANDRADE, M.C.N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeireiros e agroindustriais da região amazônica. **Food Science and Technology**, v. 29, n. 4, p. 868–872, 2009. https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000400026.

[46] SALES-CAMPOS, C.; SILVA, J.F.; NASCIMENTO, L.B.B.; GOUVÊA, P.R.S.; AGUIAR, L.V.B.; FARINÃ, J.I.; *et al*. Nutritional and bioactive properties of an amazon wild oyster culinary-medicinal mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Agaricomycetes): contributions to Functional Food and Human Health. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 23, n 7, p. 79-90, 2021. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021038780.

[47] TAGKOULI, D.; KALIORA, A.; BEKIARIS, G.; KOUTROTSIOS, G.; CHRISTEA, M.; ZERVAKIS, G.I.; *et al*. Free amino acids in three pleurotus species cultivated on agricultural and agro-industrial by-products. **Molecules**, v. 25, n. 17, p. 4015, 2020. https://doi.org/10.3390/molecules25174015.

[48] DUNKWAL, V.; JOOD, S.; SINGH, S. Physico-chemical properties and sensory evaluation of *Pleurotus sajor-caju* powder as influenced by pre-treatments and drying methods. **British Food Journal**, v. 109, n. 9, p. 749–759, 2007. https://doi.org/10.1108/00070700710780715

[49] SINGH, S.; KUMAR, C.G.; SINGH, S. Production, processing and consumption patterns of mushrooms. **Indian Food Packer**, v. 14, n. 6, p. 38–47, 1995.

[50] CENCIC, A.; CHINGWARU, W. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. **Nutrients**, v. 2, n. 6, p. 611-625, 2010. https://doi.org/10.3390/nu2060611.

[51] DEFELICE, S.L. The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 2, p. 59–61, 1995. https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)88944-X.

[52] ERJAVEC, J.; KOS, J.; RAVNIKAR, M.; DREO, T.; SABOTIČ, J. Proteins of higher fungi--from forest to application. **Trends in biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 259–273, 2012. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.01.004.

[53] BARROS, L.; BAPTISTA, P.; CORREIA, D.M.; CASAL, S.; OLIVEIRA, B.; FERREIRA, I.C.F.R. Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. **Food Chemistry**, v. 105, n. 1, p. 140–145, 2007. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.052.

[54] BARROS, L.; CRUZ, T.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L.M.; FERREIRA, I.C.F.R. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceutical. **Food and Chemical Toxicology**. v. 46, n. 8, p. 2742-2747, 2008. https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.030.

[55] MA, G.; YANG, W.; FANG, Y.; MA, N.; PEI, F.; ZHAO, L.; *et al*. Antioxidant and cytotoxicites of *Pleurotus eryngii* residue polysaccharides obtained by ultrafiltration. **LWT**, v. 73, p. 108–116, 2016. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.049.

[56] ZHANG, C.; LI, S.; ZHANG, J.; HU, C.; CHE, G.; ZHOU, M.; *et al*. Antioxidant and hepatoprotective activities of intracellular polysaccharide from *Pleurotus eryngii* SI-04.

International Journal of Biological Macromolecules, v. 91, p. 568–577, 2016. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.104.

[57] PATEL, S.; GOYAL, A. Recent develoPCents in mushrooms as anti-cancer therapeutics: a review. **3 Biotech**, v. 2, p. 1–15, 2012. https://doi.org/10.1007/s13205-011-0036-2.

[58] SARI, M.; PRANGE, A.; LELLEY, J.I.; HAMBITZER, R. Screening of beta-glucan contents in commercially cultivated and wild growing mushrooms. **Food Chemistry**, v. 216, n. 1, p. 45–51, 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.010.

[59] NITSCHKE, J.; MODICK, H.; BUSCH, E; VON-REKOWSKI, R.W.; ALTENBACH, H.J. A new colorimetric method to quantify β-1,3-1,6-glucans in comparison with total β-1,3-glucans in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v. 127, n. 2, p. 791–796, 2011. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.149.

[60] SYNYTSYA, A.; MICKOVA, K.; SYNYTSYA, A.; JABLONSKY, I.; SPEVACEK, J.; ERBAN, V; Glucans from fruit bodies of cultivated mushroom *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: structure and potential prebiotic activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 4, p. 548-556, 2009. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.021.

[61] AUGUSTÍN, J.; JAWORSKA, G.; DANDÁR, A. *Pleurotus ostreatus* as a source of beta-D-glucans. **Zywnosc Nauka Technologia Jakość**, v. 14, n. 6, p. 170-176, 2007.

[62] GUNAWARDENA, D.; BANNETT, L.; SHANMUGAM, K; KING, K.; WILLIAMS, R.; ZABARAS, D.; *et al*. Anti-inflammatory effects of five commercially available mushroom species determined in lipopolysaccharide and interferon-γ activated murine macrophages. **Food Chemistry**, v. 148, p. 92–6, 2014. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.015.

[63] ZHANG, Y.; DAI, K.; KONG, X.; CHEN, L. Characterization and in vitro antioxidant activities of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, n. 3, p. 259–65, 2012. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.05.003.

[64] WANG, H.X.; NG, T.B. Isolation of a novel ubiquitin-like protein from *Pleurotus ostreatu*s mushroom with anti-human immunodeficiency virus, translation-inhibitory, and

ribonuclease activities. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 276, n. 2, p. 587–93, 2000. https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3540.

[65] WU, J.Y.; CHEN, C.H.; CHANG, W.H.; CHUNG, K.T.; LIU, Y.W.; LU, F.J.; *et al*. Anti-cancer effects of protein extracts from *Calvatia lilacina*, *Pleurotus ostreatus* and *Volvariella volvacea*. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, Article ID 982368, p. 10, 2011. https://doi.org/10.1093/ecam/neq057.

[66] GASECKA, M.; MLECZEK, M.; SIWULSKI, M.; NIEDZIELSKI, P. Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. **European Food Research Technology**, v. 242, p. 723-732, 2016. https://doi.org/10.1007/s00217-015-2580-1.

[67] ALARCÓN, J.; AGUILA, S.; ARANCIBIA-AVILA, P.; ZAMORANO-PONCE, E.; HERNÁNDEZ, M. Production and purification of stains from *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycetes) strains. **Zeitschrift für Naturforschung C. Journal of Biosciences**, v. 58, n. 1-2, p. 62-64, 2003. https://doi.org/10.1515/znc-2003-1-211**.**

[68] CHEN, S.Y.; HO, K.J.; HSIEH, Y.J.; WANG, L.T.; MAU, J.L. Contents of lovastatin, γ-aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. **LWT**, v. 47, n. 2, p. 274–278, 2012. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.019.

[69] ALAM, N.; AMIN, R.; KHAN, A.; ARA, I.; SHIM, M.J.; LEE, M.W.; *et al*. Comparative effects of oyster mushrooms on lipid profile, liver and kidney function in hypercholesterolemic rats. **Mycobiology**, v. 37, n. 1, p. 37–42, 2009. https://doi.org/10.4489/MYCO.2009.37.1.037.

[70] ASRAFUZZAMAN, M.; RAHMAN, M.M.; MANDAL, M.; MARJUQUE, M.; BHOWMILK, A.; ROKEYA, B.; *et al*. Oyster mushroom functions as an anti-hyperglycaemic through phosphorylation of AMPK and increased expression of GLUT4 in type 2 diabetic model rats. **Journal of Taibah University Medical Sciences**, v. 13, n. 5, p. 465–471, 2018. https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2018.02.009.

[71] RAVI, B.; RENITTA R.E.; PRABHA, M.L.; ISSAC, R.; NAIDU, S. Evaluation of antidiabetic potential of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in alloxan-induced diabetic

mice. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 35, n. 1, p. 101–9, 2013. https://doi.org/10.3109/08923973.2012.710635.

[72] WAKTOLA, G.; TEMESGEN, T. Pharmacological activities of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) **Novel Research in Microbiologu Journal**, v. 4, n 2, p. 688-695, 2020. https://doi.org/10.21608/nrmj.2020.84017.

[73] MASCHIO, B.H.; GENTIL, B.C.; CAETANO, E.L.A.; RODRIGUES, L.S.; LAURINO, L.F.; SPIM, S.R.V.; *et al*. Characterization of the effects of the shiitake culinary-medicinal mushroom, *Lentinus edodes* (agaricomycetes), on severe gestational diabetes mellitus in rats. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 19, n. 11, p. 991–1000, 2017. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2017024498.

[74] KAGEYAMA, H.; FUNAHASHI, H.; HIRAYAMA, M.; TAKENOYA, F.; KITA, T.; KATO, S.; *et al*. Morphological analysis of ghrelin and it receptor distribution in the rat pancreas. **Regulatory Peptides**, v. 126, n. 1–2, p. 67–71, 2005. https://doi.org/10.1016/j.regpep.2004.08.031.

[75] KIM, S.K.; HEBROK, M. Intercellular signals regulating pancreas develoPCent and function. **Genes & DeveloPCent**, v. 15, n. 2, p. 111–27, 2001. https://doi.org/10.1101/gad.859401.

[76] PRADO, C.L.; PUGH-BERNARD, A.E.; ELGHAZI, L. SUSSEL, L. Ghrelin cells replace insulin-producing β in two mouse models of pancreas develoPCent. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 101, n. 9, p. 2924–9, 2004. https://doi.org/10.1073/pnas.0308604100.

[77] RIECK, S.; KAESTNER, K. H. Expansion of beta-cell mass in response to pregnancy. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 21, n. 3, p. 151–158, 2010. https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.11.001.

[78] BONNER-WEIR, S. Beta-cell turnover: its assessment and implications. **Diabetes**, v. 50, n. 1, p. S20-24, 2001. https://doi.org/10.2337/diabetes.50.2007.S20.

[79] BUTLER, P.C.; MEIER, J.J.; BUTLER, A.E.; BHUSHAN, A. The replication of beta cells in normal physiology, in disease and for therapy. **Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism**, v. 3, n. 11, p. 758–768, 2007. https://doi.org/10.1038/ncpendmet0647.

[80] EBATO, C.; UCHIDA, T.; ARAKAWA, M.; KOMATSU M.; UENO, T.; KOMIYA K.; *et al*. Autophagy is important in islet homeostasis and compensatory increase of beta cell mass in response to high-fat diet. **Cell Metabolism**, v. 8, n. 4, p. 325–32, 2008. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.08.009.

[81] FUJIMOTO, K.; HANSON, P.T.; TRAN, H.; FORD, E.L.; HAN, Z.; JOHNSON, J.D.; *et al*. Autophagy regulates pancreatic beta cell death in response to Pdx1 deficiency and nutrient deprivation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 40, p. 27664–27673, 2009. https://doi.org/10.1074/jbc.M109.041616.

[82] GENEVAY, M.; PONTES, H.; MEDA, P. Beta cell adaptation in pregnancy: a major difference between humans and rodents? **Diabetologia**, v. 53, n. 10, p. 2089–92, 2010. https://doi.org/10.1007/s00125-010-1848-z.

[83] MONTANYA, E.; NACHER, V.; BIARNÉS, M.; SOLER, K. Linear correlation between beta-cell mass and body weight throughout the lifespan in Lewis rats: role of beta-cell hyperplasia and hypertrophy. **Diabetes**, v. 49, n. 8, p. 1341–1346, 2000. https://doi.org/10.2337/diabetes.49.8.1341.

[84] DOR, Y.; BROWN, J.; MARTINEZ, O.I.; MELTON, D.A. Adult pancreatic β-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. **Nature**, v. 429, n. 6987, p. 41–46, 2004. https://doi.org/10.1038/nature02520.

[85] SWENNE, I. Effects of aging on the regenerative capacity of the pancreatic B-cell of the rat. **Diabetes**, v. 32, n. 1, p. 14–9, 1983. https://doi.org/10.2337/diab.32.1.14.

[86] FINEGOOD, D. T.; SCAGLIA, L.; BONNER-WEIR, S. Dynamics of beta-cell mass in the growing rat pancreas - estimation with a simple mathematical model. **Diabetes**, v. 44, n. 3, p. 249–56, 1995. https://doi.org/10.2337/diab.44.3.249.

[87] BONNER-WEIR, S.; WEIR, G.C. New sources of pancreatic beta-cells. Nature biotechnology, v. 23, n. 7, p. 857–61, 2005. https://doi.org/10.1038/nbt1115.

[88] KIM, H.S.; LEE, M.K. β-Cell regeneration through the transdifferentiation of pancreatic cells: pancreatic progenitor cells in the pancreas. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 7, n. 3, p. 286–96, 2016. https://doi.org/10.1111/jdi.12475.

[89] TSONIS, P.A.; MADHAVAN, M.; TANCOUS, E.E.; RIO-TSONIS, K. A newt's eye view of lens regeneration. **The International Journal of DeveloPCental Biology**, v. 48, n. 8–9, p. 975–980, 2004. https://doi.org/10.1387/ijdb.041867pt.

[90] CHERA, S.; BARONNIER, D.; GHILA, L.; CIGLIOLA, V.; JENSEN, J.N.; GU, G.; *et al*. Diabetes recovery by age-dependent conversion of pancreatic δ-cells into insulin producers. **Nature**, v. 514, n. 7523, p. 503–7, 23, 2014. https://doi.org/10.1038/nature13633.

[91] THOREL, F.; NÉPOTE, V.; AVRIL, I.; KOHNO, K.; DESGRAZ, R.; CHERA, S.; *et al*. Conversion of adult pancreatic α-cells to β-cells after extreme β-cell loss. **Nature**, v. 464, n. 7292, p. 1149–54, 2010. https://doi.org/10.1038/nature08894.

[92] KERR, J. F.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **British Journal of Cancer**, v. 26, n. 4, p. 239–57, 1972. https://doi.org/10.1038/bjc.1972.33.

[93] HENGARTNER, M.O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, v. 407, n. 6805, p. 770–776, 2000. https://doi.org/10.1038/35037710.

[94] SCAGLIA, L.; CAHILL, C.J.; FINEGOOD, D.T.; BONNER-WEIR, S. Apoptosis participates in the remodeling of the endocrine pancreas in the neonatal rat. **Endocrinology**, v. 138, n. 4, p. 1736–41, 1997. https://doi.org/10.1210/endo.138.4.5069.

[95] BOSCHERO, A.C. Compling of insulin stimulation-secretion by pancreatic beta cell. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 40, n. 3, p. 149–155, 1996.

[96] BELL, G.I.; KAYANO, T.; BUSE, J.B.; BURANT, C.F.; TAKEDA, J.; LIN, D. *et al*. Molecular biology of mammalian glucose transporters. **Diabetes Care**, v. 13, n. 3, p. 198–208, 1990. https://doi.org/10.2337/diacare.13.3.198.

[97] MEGLASSON, M. D.; MATSCHINSKY, F. M. Pancreatic islet glucose metabolism and regulation of insulin secretion. **Diabetes/Metabolism Reviews**, v. 2, n. 3–4, p. 163–214, 1986. https://doi.org/10.1002/dmr.5610020301.

[98] CIVELEK, V.N.; DEENEY, J.T.; KUBIK, K.; SCHULTZ, V.; TORNHEIM, K. CORKEY, B.E. Temporal sequence of metabolic and ionic events in glucose-stimulated clonal pancreatic β-cells (HIT). **Biochemical Journal**, v. 315, n. 1, p. 1015–9, 1996. https://doi.org/10.1042/bj3151015.

[99] ASHCROFT, F. M.; RORSMAN, P. Diabetes mellitus and the β cell: the last ten years. **Cell**, v. 148, n. 6, p. 1160–71, 2012. https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.010.

[100] COOK, D.L.; IKEUCHI, M.; FUJIMOTO, W.Y. Lowering of pH_i inhibits Ca^{2+}-activated K^+ channels in pancreatic B-cells. **Nature**, v. 311, n. 5983, p. 269–271, 1984. https://doi.org/10.1038/311269a0.

[101] RORSMAN, P.; ASHCROFT, F. M.; TRUBE, G. Single Ca channel currents in mouse pancreatic B-cells. **Pflügers Archives European Journal of Physiology**, v. 412, n. 6, p. 597–603, 1988. https://doi.org/10.1007/BF00583760.

[102] SATIN, L. S.; COOK, D. L. Voltage-gated Ca^{2+} current in pancreatic B-cells. **Pflugers Archiv: European journal of physiology**, v. 404, n. 4, p. 385–7, 1985. https://doi.org/10.1007/BF00585354.

[103] GRODSKY, G. M. A New Phase of Insulin Secretion: How Will It Contribute to Our Understanding of β-Cell Function? **Diabetes**, v. 38, n. 6, p. 673–678, 1989. https://doi.org/10.2337/diab.38.6.673.

[104] ZAWALICH, W.S.; ZAWALICH, K.C. Effects of protein kinase C inhibitors on insulin secretory responses from rodent pancreatic islets. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 177, n. 1–2, p. 95–105, 2001. https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00422-1.

[105] NIELSEN, J.H.; HAASE, TN.; JAKSCH, C.; NALLA, A.; SØSTRUP, B.; NALLA, A.A.; *et al*. Impact of fetal and neonatal environment on beta cell function and develoPCent of diabetes. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 93, n. 11, p. 1109–22, 2014. https://doi.org/10.1111/aogs.12504.

[106] HELLERSTROEM, C. The influence of pregnancy and lactation on the endocrine pancreas of mice. **Acta Societatis Medicorum Upsaliensis**, v. 68, p. 17–28, 1963.

[107] PARSONS, S.; SCOTT, A.R.; MACDONALD, I.A. The effect of posture and environmental temperature on cardiovascular reflexes in normal subjects and diabetes mellitus. **Clinical Autonomic Research**, v. 2, n. 3, p. 147–151, 1992. https://doi.org/10.1007/BF01818954.

[108] RIECK, S.; WHITE, P.; SCHULG, J.; FOX, A.J.; SMIRNOVA, O.; GAO, N.; *et al*. The transcriptional response of the islet to pregnancy in mice. **Molecular Endocrinology**. v. 23, n. 10, p. 1702-1712, 2009. https://doi.org/10.1210/me.2009-0144.

[109] NIELSEN, J.H. Beta cell adaptation in pregnancy: a tribute to Claes Hellerström. **Upsala Journal of Medical Sciences**, v. 121, n. 2, p. 151–154, 2016. https://doi.org/10.3109/03009734.2016.1165776.

[110] SORENSON, R.L.; BRELJE, T.C. Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: beta-cell growth, enhanced insulin secretion and the role of lactogenic hormones. **Hormone and Metabolic Research**, v. 29, n. 6, p. 301–307, 1997. https://doi.org/10.1055/s-2007-979040.

[111] COSTRINI, N.V; KALKHOFF, R.K. Relative effects of pregnancy, estradiol, and progesterone on plasma insulin and pancreatic islet insulin secretion. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 50, n. 5, p. 992–9, 1971. https://doi.org/10.1172/JCI106593.

[112] WEINHAUS, A.J.; STOUT, L.E.; SORENSON, R. L. Glucokinase, hexokinase, glucose transporter 2, and glucose metabolism in islets during pregnancy and prolactin-treated islets in vitro: mechanisms for long term up-regulation of islets. **Endocrinology**, v. 137, n. 5, p. 1640–1649, 1996. https://doi.org/10.1210/endo.137.5.8612496.

[113] GREEN, I.C.; PERRIN, D.; HOWELL, S.L. Insulin release in isolated islets of Langerhans of pregnant rats. Relationship between glucose metabolism and cyclic AMP. **Hormone and Metabolic Research**, v. 10, n. 1, p. 32–5, 1978. https://doi.org/10.1055/s-0028-1093476.

[114] BRELJE, T.C.; SORENSON, R.L. Nutrient and hormonal regulation of the threshold of glucose-stimulated insulin secretion in isolated rat pancreases. **Endocrinology**, v. 123, n. 3, p. 1582–90, 1988. https://doi.org/10.1210/endo-123-3-1582.

[115] MATTHEWS, D.; HOSKER, J.P.; RUDENSKI, A.S.; NAYLOR, B.A.; TREACHER, D.F.; TURNER, R.C. Homeostasis model assess-ment: Insulin resistance and β-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412-419, 1985. https://doi.org/ 10.1007/BF00280883.

[116] MATVEYENKO, A.V.; SINGH, I.; SHIN, B.C.; Differential effects of prenatal and postnatal nutritional environment on ß-cell mass develoPCent and turnover in male and female rats. **Endocrinology**, 151, 5647-5656. https://doi.org/10.1210/en.2010-0978.

[117] HERRERA, E. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. **European Journal of Clinical Nutritions**, v. 54, n.1, p. S47–S51, 2000. https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600984.

[118] GHIO, A.; BERTOLOTTO, A.; RESI, V.; VOLPE, L.; DI-CIANNI, G. Triglyceride metabolism in pregnancy. **Advances in Clinical Chemistry**, v. 55, n. 1, 133-153, 2011. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-387042-1.00007-1.

[119] FARHANA, A., LAPPIN, S.L. *Biochemistry, Lactate Dehydrogenase*. 1 ed. Treasure Island, StatPearls Publishing Copyright, 2021.

[120] BUZANOVSKII, V.A. Determination of proteins in blood. part 1: determination of total protein and albumin. **Review Journal of Chemistry**, v. 7, p. 79–124, 2017. https://doi.org/10.1134/S2079978017010010.

[121] TANG, X.; ZHANG, Z.; FANG, M.; HAN, Y., WANG, G.; WANG, S.; *et al*. Transferrin plays a central role in coagulation balance by interacting with clotting factors. **Cell Research**, v. 30, p. 119-132, 2020. https://doi.org/10.1038/s41422-019-0260-6.

[122] ALAM, N.; YOON, K.N.; LEE, T.S.; LEE, U.Y. Hypolipidemic activities of dietary *Pleurotus ostreatus* in hypercholesterolemic rats. **Mycobiology**, v. 39, n. 1, p. 45-51, 2011.

[123] HASHIMOTO, M.; SHINOZUKA, K.; TANABE, Y.; SHAHDAT, H.M.; GAMOH, S.; KWON, Y.M.; *et al*. Long-term supplementation with a high cholesterol diet decreases the release of ATP from the caudal artery in aged rats. **Life Sciences**, v. 63, n. 21, p. 1879-1885, 1998. https://doi.org/10.1016/S0024-3205(98)00464-0.

[124] YANG, S.; YAN, J.; YANG, L.; MENG, Y; WANG, N. HE, C.; *et al*. Alkali-soluble polysaccharides from mushroom fruiting bodies improve insulin resistance. **Internacional Journal of Biological Macromolecules**. v. 126, p. 126,466-474, 2019. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.251.

[125] BURD, L.I.; JONES-JR, M.D.; SIMMONS, M.A.; MAKOWSKI, E.L.; MESCHIA, G.; BATTAGLIA, F.C. Placental production and foetal utilization of lactate and pyruvate. **Nature**, v. 254, p. 710-711, 1975. https://doi.org/10.1038/254710a0.

[126] TSOI, S.C.M.; ZHENG, J.; XU, F. KAY, H.H. Differential expression of lactate dehydrogenase isoenzymes (LDH) in human placenta with high expression of LDH-A_4 isozyme in the endothelial cells of preeclampsia villi. **Placenta**, v. 22, p. 317-322, 2001. https://doi.org/10.1053/plac.2000.0620.

[127] KAY, H.H.; ZHU, S.; TSOI, S. Hypoxia and lactate production in trophoblast cells. **Placenta**, v. 28, n. 8-9, p. 854-860, 2007. https://doi.org/10.1016/j.placenta.2006.11.011.

[128] KULKARNI. V.V.; SHAIKH, B. To study levels of LDH in normal pregnancy, pre-eclampsia & eclampsia. **Journal of Evolution Medical and Dental Sciences**, v. 8, n. 35, p. 2768-2772, 2019. https://doi.org/10.14260/jemds/2019/600.

[129] YONG, T.; CHEN, S.; XIE, Y.; CHEN, D.; SU, J.; SHUAI, O.; *et al*. Hypouricemic effects of Ganoderma applanatum in hyperuricemia mice through OAT1 and GLUT9.

Frontiers Pharmacology, v. 8, Article ID 996, 2018. https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00996.

[130] YONG, T, CHEN, S.; XIE, Y.; SHUAI, O.; LI, X.; CHEN, D. Hypouricemic effects of extracts from *Agrocybe aegerita* on hyperuricemia mice and virtual prediction of bioactives by molecular docking. **Frontiers Pharmacology**, v. 9, Article ID 498, 2018. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00498.

[131] AHMED, O.M.; EBAID, H.; EL-NAHASS, E.; RAGAB, M.; ALHAZZA, I.M. Nephroprotective effect of *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus* extracts and carvedilol on ethylene glycol-induced urolithiasis: roles of NF-κB, p53, Bcl-2, Bax and Bak. **Biomolecules**, v. 10, n. 9, 2020. https://doi.org/10.3390/biom10091317.

[132] QUIGLEY, G.J.; RICHARDS, R.T.; SHIER, K.J. Heat-stable alkaline phosphatase. a parameter of placental function. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 106, n. 3, p. 106, 340-351, 1970. https://doi.org/10.1016/0002-9378(70)90358-3

[133] CHARD, T. Assessment of fetoplacental function by biochemical determinations. **Journal of Clinical Pathology Supplement (Royal College of Pathologists)**, v. 10, n. 29, p.18–26, 1976.

[134] HOLMGREN, P.A.; STIGBRAND, T.; DAMBER, M.G.; VON-SCHOULTZ, B. Serum levels of placental alkaline phosphatase in high-risk pregnancies. **Obstetrics and Gynecology**, v. 54, n. 5, p. 631–634, 1979.

[135] YARRINGTON, C.D.; CANTONWINE, D.E.; SEELY, E.W.; MCELRATH, T.F.; ZERA, C.A. The association of early unexplained elevated alanine aminotransferase with large-for-gestational-age birthweight. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 215, n. 4, p. 474.e1-474.e5, 2016. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.04.051.

[136] MOSS, D.W. Physicochemical and pathophysiological factors in the release of membrane-bound alkaline phosphatase from cells. **Clinica Chimica Acta**, v. 257, n. 1, p. 133–140, 1997. https://doi.org/10.1016/s0009-8981(96)06438-8.

[137] LEE, S.M.; PARK, J.S.; HAN, Y.J.; KIM, W.; BANG, S.H.; KIM, B.J. Elevated alanine aminotransferase in early pregnancy and subsequent develoPCent of gestational diabetes and pre-eclampsia. **Journal of Korean Medical Science**, v. 35, n. 26, p. e198, 2020. https://doi.org/10.3346/jkms.2020.35.e198.

[138] ERNST, G.D.S.; JONGE, L.L.; HOFMAN, A.; LINDEMANS, J.; RUSSCHER, H.; STEEGERS, E.A.P. C-reactive protein levels in early pregnancy, fetal growth patterns, and the risk for neonatal complications: the generation R study. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 205, n. 2, p. 132.e1-132.e12, 2011. https://doi.org10.1016/j.ajog.2011.03.049.

[139] QUESADA-CANDELA, C.; TUDURÍ, E.; MARROQUÍ, L.; ALONSO-MAGDALENA, P.; QUESADA, I.; NADAL, A. Morphological and functional adaptations of pancreatic alpha-cells during late pregnancy in the mouse. **Metabolism**, v. 102, Article ID 153963, 2020. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.153963.

[140] WANG, J.; WANG, C.; LI, S.; LI, W. YUAN, G.; PAN, Y. Anti-diabetic effects of Inonotus obliquus polysaccharides in streptozotocin-induced type 2 diabetic mice and potential mechanism via PI3K-Akt signal pathway. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 95, 1669-1677, 2017. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.104.

[141] GUO, C.; LI, R.; ZHENG, N.; XU, L.; LIANG, T.; HE, Q. Anti-diabetic effect of ramulus mori polysaccharides, isolated from Morus alba L. on STZ-diabetic mice through blocking inflammatory response and attenuating oxidative stress. **International Immunopharmacology**, v. 16, n. 1, p. 93-99, 2013. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.03.029.

[142] HONG, L.; QIN, W.; SHUZHEN, G.; JUNCHENG, H.; HANJU, S.; XIAOXIANG, Z.; *et al*. The protective effect of MT-α-glucan against streptozotocin (STZ)-induced NIT-1 pancreatic β-cell damage. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 1211-1217, 2013. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.037.

[143] MIHAILOVIĆ, M.; JOVANOVIĆ, J. A.; USKOKOVIĆ, A.; GRDOVIĆ, N.; DINIĆ, S.; VIDOVIĆ, S.; *et al*. Protective effects of the mushroom *Lactarius deterrimus* extract on systemic oxidative stress and pancreatic islets in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal**

of Diabetes Research, v. 2015, Article ID 576726, p. 10, 2015. https://doi.org/10.1155/2015/576726.

[144] NOWAKOWSKI, P.; MARKIEWICZ-ŻUKOWSKA, R.; BIELECKA, J.; MIELCAREK, K.; GRABIA, M.; SOCHA, K. Treasures from the for-est: Evaluation of mushroom extracts as anti-cancer agents. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 143, Article ID 112106, p. 25, 2021. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112106.

[145] DIAMOND, M.P.; THORNTON, K.; CONNOLLY-DIAMOND, M.; SHERWIN, R.S.; DEFRONZO, R.A. Reciprocal variations in insulin-stimulated glucose uptake and pancreatic insulin secretion in women with normal glucose tolerance. **Journal of The Society for Gynecological Investigation**, v. 2, n. 5, p. 708-715, 1995. https://doi.org/10.1177/107155769500200507.

[146] MEIER, J.J.; BONADONNA, R.C. Role of reduced β-cell mass versus impaired β-cell function in the pathogenesis of type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 36, n. 2, p. S113-S119, 2013. https://doi.org/10.2337/dcS13-2008.

ANEXOS

Scientific Research Publishing
https://www.scirp.org

American Journal of Plant Sciences

ISSN Print: 2158-2742, ISSN Online:2158-2750

Acceptance Notification

Dear Author(s), February 23, 2023

Thanks for your contribution to American Journal of Plant Sciences. We are pleased to inform you that your paper:

ID: 2605501
Title: Investigation into the intake of edible mushroom Pleurotus ostreatus (Aqueous Extract Oyster Mushroom) on biochemical indices of female wistar rats
Authors: EDSON HENRIQUE PEREIRA DE ARRUDA, MARISE AUXILIADORA DE BARROS REIS, LEONARDO MARíN, LAVINIA ALMEIDA MULLER, AMíLCAR SABINO DAMAZO, MARLI GERENUTTI, MARCIA QUEIROZ LATORRACA, CECI SALES-CAMPOS

has been accepted for publication. Congratulations!

The paper will be ready for publication in Vol. 14 No.2 in February 2023 if everything goes smoothly.

If you have any questions, please feel free to contact us.

Best regards
AJPS Editorial Office
Email: ajps@scirp.org
https://www.scirp.org/journal/ajps

Scientific Research Publishing

American Journal of Plant Sciences, 2023, 14, 177-190
https://www.scirp.org/journal/ajps
ISSN Online: 2158-2750
ISSN Print: 2158-2742

Investigation into the Intake of Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* (Aqueous Extract Oyster Mushroom) on Biochemical Indices of Female Wistar Rats

Edson Henrique Pereira de Arruda[1*], Marise Auxiliadora de Barro Reis[2], Leonardo Marin[3], Lavinia Almeida Muller[4], Amilcar Sabino Damazo[4], Marli Gerenutti[5], Márcia Queiroz Latorraca[2], Ceci Sales-Campos[1]

[1]Edible Fungi Cultivation Laboratory, National Institute for Amazonian Research, Manaus, Brazil
[2]Laboratory of Biological Evaluation of Foods, Department of Food and Nutrition, Faculty of Nutrition, Federal University of Mato Grosso, Cuiabá, Brazil
[3]State Department of Health of Mato Grosso, Blood Center-MT, Cuiabá, Brazil
[4]Department of Basic Sciences in Health, Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso, Cuiabá, Brazil
[5]School of Medical Sciences of the Pontifical Catholic University of São Paulo (PUC-SP), Sorocaba, Brazil
Email: *edson.henrique@unemat.br

How to cite this paper: de Arruda, E.H.P., de Barro Reis, M.A., Marin, L., Muller, L.A., Damazo, A.S., Gerenutti, M., Latorraca, M.Q. and Sales-Campos, C. (2023) Investigation into the Intake of Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* (Aqueous Extract Oyster Mushroom) on Biochemical Indices of Female Wistar Rats. *American Journal of Plant Sciences*, **14**, 177-190.
https://doi.org/10.4236/ajps.2023.142014

Received: December 12, 2022
Accepted: February 24, 2023
Published: February 27, 2023

Copyright © 2023 by author(s) and Scientific Research Publishing Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).
http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Open Access

Abstract

Pleurotus ostreatus, popularly known as oyster mushroom, has nutraceutical properties that include hypocholesterolemic, hypoglycemic, antioxidant, anti-inflammatory, antitumor, hepatoprotective and hypotensive activities. Aqueous Extract Oyster Mushroom (AEOM) containing lyophilized *P. ostreatus* reconstituted in 0.9% saline solution was evaluated for its effect on body weight, biochemical indices and pancreas morphometry. Twelve healthy Wistar female rats were assigned to Control and AEOM groups, consisting of rats that received 0.9% saline solution and AEOM (100 mg/kg/day), respectively, administered by oral gavage at 3 mL/kg of body weight for 15 days. The animals had free access to commercial feed and water *ad libitum*. Blood was obtained by cardiac puncture and serum was used to biochemical determinations. Pancreas was excised, weighed and fixed in 4% neutral buffered formalin for histopathological examination. Initial and final body weights, and absolute and relative weights of pancreas did not differ between the groups. Total cholesterol, HDL-c, albumin and uric acid were lower in the AEOM group compared to the control group. The serum concentration of total proteins, glucose, triglycerides, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, creatinine and urea were similar in the groups. Pancreas of rats treated with AEOM exhibited an in-

crease in the size of pancreatic islet. Thus, the use of AEOM is relatively safe at the dose studied and produces hypertrophy of the pancreatic islets without altering glycemic homeostasis.

Keywords

Edible Mushroom, Nutraceuticals, *Pleurotus ostreatus*, Aqueous Extract Oyster Mushroom, Biochemical Analyzes

1. Introduction

Pleurotus ostreatus, popularly known as oyster mushroom, is a type of edible mush-room widely cultivated worldwide in different lignocellulosic residues [1]. Provide important nutrients (selenium, potassium, riboflavin, niacin, vitamin D, protein and fiber) and bioactive compounds (lectins, proteases, fibrinolytic enzymes, protease inhibitors, and phenolic compounds) [1]-[9]. Studies report that their bioactive compounds are responsible by effects anti-inflammatory [10], antinociceptive [11], antioxidant [12] [13] [14] [15], antitumour [16] [17] [18], enhancer of iron bioavailability [19], gastroprotective [20], hepatoprotective [21] [22] [23], hypocholesterolemic [12] [24] [25] [26], hipoglycemic [2] [25] [27]-[39], immunomodulador [4] and nephro Ir à página 11 0] [41] (Figure 1).

Almost 20 years ago, a study in Bratislava, Slovak Republic, investigated the ap-plication of a diet with 4% of *P. ostreatus* in diabetic rats, and showed a significantly lower basal and postprandial glycaemia in relation to the control group [38]. After this study, several other works were published, investigating the dose, the form of administration, the rodent strain, the drug for inducing

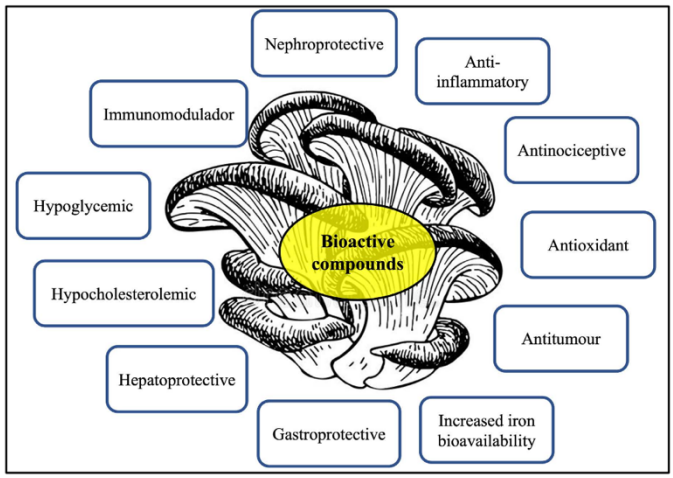

Figure 1. Effects of bioactive compounds from *P. ostreatus*.

diabetes (diabetic model), the period of the experiment and laboratory tests; everything to elucidate if the reduction of glucose happens after the animal receives the oyster mushroom [2] [27] [29] [30] [31] [32] [35] [42]. The hypoglycaemic effect of *P. ostreatus* has been attributed to increased insulin secretion and the action of this hormone in peripheral tissues [42], possibly mediated by AMP-activated protein kinase (AMPK) and c-AMP-response element binding protein (CREB) [31]. Although the acute and chronic oral hypoglycaemic and hyperinsulinaemic potential of *P. ostreatus* has been established, the cellular mechanism and its effects on pancreatic islet structure have been little explored [31].

To maintain glucose homeostasis, the pancreatic islets use a variety of adaptive mechanisms, including increased cell mass and number and increased insulin secretion capacity. When the secretion cannot meet the increased demand for insulin due to peripheral resistance to this hormone, hyperglycaemia may occur [43]. Studies that clarify these aspects may contribute to the expansion of knowledge about the pharmacological activity and the guidelines for the use of this mushroom species as a nutraceutical agent. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the effects of the Aqueous Extract Oyster Mushroom (AEOM) on biochemical markers of nutritional status, and liver and kidney function, as well as on the structural adaptations of pancreatic islets of female rats.

2. Material and Methods

2.1. Experimental Animals

Twelve (12) healthy adult female Wistar rats weighing 150 to 180 g were used for this study. They were obtained from the Central Animal Facility of the Federal University of Mato Grosso, and were maintained under standard housing conditions in the animal section of Laboratory of Biological Evaluation of Food of the Department of Food and Nutrition, Federal University of Mato Grosso, Mato Grosso State, Brazil. The animals were adapted for two weeks preceding initiation of experimental regimen, received fed commercial (Labine chow) and clean tap water acessive ad libitum, exposed to clean tap water throughout the period of the study. The room temperature was maintained at approximately 25˚C, relative humidity at 55%, with a light cycle of 12 hours light and 12 hours dark. All animal experimental protocols were permitted by the Ethics Committee on Animal Research of the Federal University of Mato Grosso (Protocol No. 23108.039877/2021-21), and were carried out by its guidelines for animal use.

2.2. Experimental Design

The animals were allotted into two groups of six (6) rats and kept in groups of three (3) animals per standard plastic rat cage. The groups were named Control and AEOM, consisting of female rats that received 0.9% saline solution and AEOM (100 mg/kg/day), respectively, that were administered by oral gavage at 3

mL/kg body weight for 15 days.

2.3. Sample Collection

Twenty four (24) h after the last oral dose the AEOM, the animals were narcotized in a CO_2 and blood were obtained through heart punction into ordinary sample bottles. The blood samples were made to stand for 20 min for coagulation to occur, and afterwards centrifuged at 2000 rpm for 10 min and the supernatant (serum) collected and kept at 4˚C prior to biochemical assay. The pancreas was quickly excised, weighed, and immediately fixed in 4% neutral buffered formalin for histopathological examination.

2.4. AEOM

2.4.1. Obtaining

The oyster mushroom (*P. ostreatus*) was obtained from the Laboratory for Cultivation of Edible Fungi of the National Institute for Research in the Amazon (INPA), Culture Collection of Agrosilvicultural Microorganisms (strain code 1467).

2.4.2. Dose Selection

The solution AEOM was prepared by reconstituting the dried and lyophilized mushroom (fruiting body of *P. ostreatus*) in 0.9% saline solution (100 mg/mL). Daily doses of 100 mg/mL of AEOM was chosen based in Grotto *et al.* [44] study, in which the mushroom did not promote hepatic damage in rats.

2.5. Biochemical Analysis

Commercial kits (Wiener Lab. Group, Brazil®) were used for the determination of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), creatinine, urea, uric acid, total proteins (TP), albumin (ALB), glucose (GLU) and lipid profile [total cholesterol (TC), triglycerides (TG) and HDL-c]. The LDL value was calculated according to the Friedewald equation: LDL-c = total cholesterol − (HDL + VLDL); VLDL-c = triglycerides/5. Analyzes were carried out in the State Department of Health of Mato Grosso, Blood Center, Cuiabá, State of Mato Grosso, Brazil. All chemicals/reagents used in this investigation were of purest analytical grade.

2.6. Changes in Body Weight

Rats in all groups were weighed on the first day and at the completion of the treatment protocols. The percentage change in body weight was calculated using:

$$\%\ \text{change in body weight} = \frac{\text{final body weight} - \text{initial body weight} \times 100}{\text{initial body weight}}$$

2.7. Relative Pancreas Weight

Pancreas weight was presented in absolute and relative values. Relative pancreas weight was calculated using the expression below:

$$\text{Pancreas}\left(\text{g}/100\text{g BW}\right)=\frac{\text{weight of pancreas}\left(\text{g}\right)\times 100}{\text{body weight}\left(\text{g}\right)}$$

2.8. Histopathological Scrutiny of the Pancreas

Four rats from each group were used for the histological studies. The pancreatic tissue was fixed in 4% paraformaldehyde solution for 24 hours at 4˚C, dehydrated in increasing concentrations of ethanol, clarified in xylene and embedded in paraffin using a histological processor (MTP 100, Slee, Mainz, Germany). The tissue was serially sectioned at 3 μm thickness using a microtome (RM2125, Leica Biosystems Nussloch, Germany) and then mounted on slides with an adhesive surface. Ten sequential sec-tions of the pancreas were deparaffinized in an oven at 60˚C for 2 h, followed by im-mersion in xylene and decreasing concentrations of ethanol. These slides were rehy-drated and stained with hematoxylin and eosin for determination of the pancreatic regions under a light microscope at 40× magnification (Axio Scope A1, Zeiss, Ober-kochen, Germany).

2.9. Statistical Analysis

The results were presented as mean ± standard deviation (S.D.) and analyzed using an unpaired Student's t-test. The significance level was set at $p < 0.05$. For the analysis of the results, the program "Statistic for Windows", (version 4.3, StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

3. Results and Discussion

3.1. The Effects of Administration of the AEOM on the Body and Pancreas Weights

The body and pancreas weights of the rats are presented in Table 1. Initial and final body weights and absolute and relative weights of pancreas did not differ between the groups.

3.2. The Effects of AEOM on Lipid Profile

The oral administration of AEOM for 15 days as shown in Table 2 caused a signifycant decrease ($p < 0.05$) in the levels of total cholesterol and HDL-c. AEOM did not alter TG and LDL-c levels.

Table 1. The effects of administration of the AEOM on the body and pancreas weights.

Treatment group	Somatic parameters				
	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Changes in body weight (%)	Weight of pancreas (g)	Weight of pancreas (g/100g BW)
Control	210 ± 8	217 ± 9	3.5 ± 1.8	0.48 ± 0.06	0.21 ± 0.04
AEOM	203 ± 13	217 ± 10	7.1 ± 4.0	0.47 ± 0.11	0.21 ± 0.04

Values expressed as mean ± SD (n = 6 per group).

Table 2. The effects of AEOM on lipid profile.

Treatment group	Lipid profile			
	TC (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL-c (mg/dL)	LDL-c (mg/dL)
Control	89 ± 19	88 ± 24	54 ± 10	12 ± 6
AEOM	59 ± 11*	76 ± 16	34 ± 5*	14 ± 28

Values expressed as mean ± SD (n = 6 per group). *Indicates difference statistical (*t* Student test, $p < 0.05$).

3.3. The Effects of AEOM on the Concentrations of AST, ALT, ALP and LDH Activities Following Oral Administration of AEOM

The oral administration of AEOM for 15 days as presented in Table 3 caused a non-significant change ($p \geq 0.05$) in the levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) activities in female rats.

3.4. The Effects of AEOM on the Concentrations of Creatinine, Urea and Uric Acid Concentrations

The oral administration of AEOM for 15 days as presented in Table 4 caused a significant decrease ($p < 0.05$) in the level of uric acid. However not caused a significant change ($p \geq 0.05$) in the levels of creatinine and urea concentrationin the female rats.

3.5. The Effects of AEOM on the Concentrations of Total Proteins (TP) and Albumin (ALB), and Glucose (GLU)

The oral administration of AEOM for 15 days as presented in Table 5 did not cause significant change ($p \geq 0.05$) in the levels of TP and GLUC, but reduced the serum albumin concentration in the female rats.

3.6. The Effects of AEOM on the Histopathological of the Pancreas

The histopathological examination of the control group showed physiological organization of the pancreas with no morphological alterations (Figure 2(A)). After 15 days of oral dosing of AEOM (Figure 2(B)) showed increasement in the pancretic islets size (H&E).

3.7. Discussion

AEOM is an extract based on *P. ostreatus*, an edible mushroom important source of bioactive compounds [1]. For this reason, edible mushroom extracts have been used as dietary supplements and recommended for the prevention and treatment of various diseases [45].

In the present study, we evaluated the use of AEOM by healthy adult rats and found similar body weight gain in both evaluated groups. However, we observed a significant reduction in serum albumin concentrations, a condition that can

Table 3. The effects of AEOM on the concentration of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) activities.

Treatment group	Hepatic function markers			
	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	LDH (U/L)
Control	157 ± 48	55 ± 7	378 ± 110	338 ± 60
AEOM	142 ± 23	60 ± 8	487 ± 154	316 ± 74

Values expressed as mean ± SD (n = 6 per group).

Table 4. The effects of AEOM on the concetrartion of creatinine, urea and uric acid.

Treatment group	Kidney function markers		
	Creatine (mg/dL)	Urea (mg/dL)	Uric acid (mg/dL)
Control	0.52 ± 0.04	45 ± 6	3.0 ± 0.6
AEOM	0.49 ± 0.03	42 ± 5	1.8 ± 0.2*

Values expressed as mean ± SD (n = 6 per group). *Indicates difference statistical (*t* Student test, $p < 0.05$).

Table 5. The effects of AEOM on the serum total protein, albumin and glucose concentrartions.

Treatment group	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	Glucose (mg/dL)
Control	7.3 ± 0.4	4.30 ± 0.08	87 ± 11
AEOM	7.1 ± 0.5	4.10 ± 0.09*	83 ± 9

Values expressed as mean ± SD (n = 6 per group). *Indicates difference statistical (*t* Student test, $p < 0.05$).

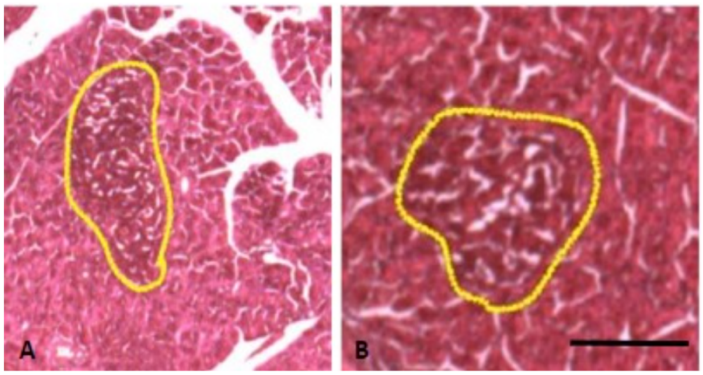

Figure 2. Photomicrographs of the pancreatic islets section of the group control (A) and group treated with AEOM (B) at 15 days. The pancreatic islets were outlined in yellow. H&E ×40. Bar = 10 μm.

result from reduced hepatic synthesis, increased catabolism and vascular permeability, and intestinal and renal loss [46]. Malnutrition, inflammation, liver disease are some situations that can contribute to the reduction of albumin synthesis [46]. Considering preserved body weight and unaltered total serum protein concentration, it is reasonable to assume that treatment with AEOM did not contribute to the deterioration of the nutritional status of the animals. Body weight fluctuations serve as a sensitive indicator of the general health status of animals [47] and normal serum total proteins are indicators of preserved nutritional status [48]. Additionally, unaltered values of AST, ALT, ALP and LDH are indicative that the AEOM did not cause liver damage [21] [22] [23] [44]. Renal loss of albumin is also an unlikely hypothesis, in view of the preserved renal function, judging by the similar serum concentrations of urea and creatinine in the evaluated groups. The reduction in serum uric acid seen in rats treated with AEOM and also observed in other studies with rodents treated with *P. ostreatus*, *Agrocybe aegerita* and *Ganoderma applanatum* [36] [37] [38] [39] has been associated with increased urinary acid excretion uric acid [36] [37], which is negatively related to albuminuria [49].

In the present study, treatment with AEOM reduced total cholesterol, as in murine models of hypercholesterolemia and diabetes [50] [51] [52]. The hypocholesterolemic effect of *P. ostreatus* has been attributed to the presence of polyunsaturated fatty acids, mainly eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids [53] and polysaccharides that positively modulate the serum lipid profile [24], as well as the stimulating effects of intestinal cholesterol excretion [50] [51]. Interestingly, in the present study, a reduction in HDL-c was observed, as opposed to reports of the positive modulatory effect of *P. ostreatus* or some of its components, such as polysaccharide residues, on HDL-c in models of diet-induced hypercholesterolemia [26] [54], in mice with alloxana-induced diabetes [28] and in HIV-infected humans on antiretroviral therapy [55]. Epidemiological studies show a strong inverse correlation between HDL-c and cardiovascular disease risk [56] [57], suggesting that in this study *P. ostreatus* had a detrimental effect on cardiovascular health. However, the reduction in HDL-c observed here may not be a cause for concern, considering the antioxidant properties of *P. ostreatus* [12] [13] [14] [15].

The histomorphological evaluation of the pancreas showed larger pancreatic islets in the AEOM group compared to the control group. Despite the hypertrophy of the islets, the glycemia of the animals treated with *P. ostreatus* did not differ from that of the control animals. This result was not surprising, since the size of the islets does not seem to be related to the increase in their functional capacity or with the hormonal content. It has been shown that insulin secretion from small islets is greater compared to large islets, with a correlation with greater insulin content/area, greater density of insulin-secreting granules and greater insulin content/volume. Central β cells of large islets appear to contain less insulin/cell with a lower insulin granule density than peripheral β cells [58] [59] [60].

4. Conclusion

The result of this present investigation showed that AEOM is safe at the dose studied, had a positive effect on lipid profile and produced hypertrophy of the pancreatic islets without altering glycemic homeostasis.

Acknowledgements

This work was funded by Coordination of Superior Level Staff Improvement, CAPES (Finance code 001). The authors would like to acknowledge the financial support provided by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas, FAPEAM (FAPEAM, POSGRAD-FAPEAM 2021 and FAPEAM UNIVERSAL AMAZONAS N. 006/2019. Processo N. 062.00143/2020), in the form of the scholarship awarded to EHPA. The authors are grateful to Celso Roberto Afonso for his excellent technical assistance.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

References

[1] Sales-Campos, C., Silva, J.F., Nascimento Brito, L.B., *et al.* (2021) Nutritional and Bioactive Properties of an Amazon Wild Oyster Culinary-Medicinal Mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Agaricomycetes): Contributions to Functional Food and Human Health. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **23**, 79-90. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2021038780

[2] Zhang, Y., Hu, T., Zhou, H., *et al.* (2016) Antidiabetic Effect of Polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, **83**, 126-132. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.045

[3] Umor, N.A., Ismail, S., Abdullah, S., *et al.* (2021) Zero Waste Management of Spent Mushroom Compost. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, **23**, 1726-1736. https://doi.org/10.1007/s10163-021-01250-3

[4] Elhusseiny, S.M., Mahdy, T.S., *et al.* (2022) Immunomodulatory Activity of Extracts from Five Edible Basidiomycetes Mushrooms in Wistar Albino Rats. *Scientific Reports*, **12**, Article No. 12423. https://doi.org/10.1038/s41598-022-16349-2

[5] De Carvalho, C.S.M., De Aguiar, L.V.B., Sales-Campos, C., *et al.* (2012) Determinação bromatológica de *Pleurotus ostreatus* cultivado em resíduos de diferentes cultivares de bananeira. *Interciencia*, **37**, 621-626. http://hdl.handle.net/1-1449/73476

[6] Sales-Campos, C., Diego, A.P., Samira, R.L.B., *et al.* (2013) *In Vitro* Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* in Lignocellulosic Residues from Amazon. *African Journal of Biotechnology*, **12**, 6526-6531. https://doi.org/10.5897/AJB2013.12854

[7] Carvalho, C.S.M., Sales-Campos, C., Aguiar, L.V.B., *et al.* (2014) Composição mineral de substratos à base de resíduos de bananeira durante o cultivo de *Pleurotus ostreatus*. *Arquivos do Instituto Biológico* (*Sao Paulo*), **81**, 272-281. https://doi.org/10.1590/1808-1657000522012

[8] Aguiar, L.V.B., Gouvêa, P.R.S., *et al.* (2022) Production of Commercial and Amazonian Strains of *Pleurotus ostreatus* in Plant Waste/Produção de linhagens comerciais e amazônicas de *Pleurotus ostreatus* em resíduos de plantas. *Brazilian Journal of Development*, **8**, 47299-47321. https://doi.org/10.34117/bjdv8n6-299

[9] Sales-Campos, C., Araujo, L.M., Minhoni, M.T., *et al.* (2011) Physiochemical Analysis and Centesimal Composition of *Pleurotus ostreatus* Mushroom Grown in Residues from the Amazon. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **31**, 456-461. https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000200027

[10] Jayasuriya, W., Handunnetti, S.M., Wanigatunge, C.A., *et al.* (2020) Anti-Inflammatory Activity of *Pleurotus ostreatus*, a Culinary Medicinal Mushroom, in Wistar Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2020**, Article ID: 6845383. https://doi.org/10.1155/2020/6845383

[11] Vasudewa, N.S., Abeytunga, D.T.U. and Ratnasooriya, W.D. (2007) Antinociceptive Activity of *Plerotus ostreatus*, an Edible Mushroom in Rats. *Pharmaceutical Biology*, **45**, 533-540. https://doi.org/10.1080/13880200701498853

[12] Anandhi, R., Annadurai, T., Anitha, T.S., *et al.* (2013) Antihypercholesterolemic and Antioxidative Effects of an Extract of the Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus*, and Its Major Constituent, Chrysin, in Triton WR-1339-Induced Hypercholesterolemic Rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, **69**, 313-323. https://doi.org/10.1007/s13105-012-0215-6

[13] Xia, F., Fan, J., Zhu, M., *et al.* (2011) Antioxidant Effects of a Water-Soluble Proteoglycan Isolated from the Fruiting Bodies of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **42**, 402-407. https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.08.012

[14] Krishnamoorthy, D. and Sankaran, M. (2016) Modulatory Effect of *Pleurotus ostreatus* on Oxidant/Antioxidant Status in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene Induced Mammary Carcinoma in Experimental Rats—A Dose-Response Study. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, **12**, 386-394. https://doi.org/10.4103/0973-1482.148691

[15] Jayakumar, T., Ramesh, E. and Geraldine, P. (2006) Antioxidant Activity of the Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on CCl4-Induced Liver Injury in Rats. *Food and Chemical Toxicology*, **44**, 1989-1996. https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.06.025

[16] Sarangi, I., Ghosh, D., Bhutia, S.K., *et al.* (2006) Anti-Tumor and Immunomodulating Effects of *Pleurotus ostreatus* Mycelia-Derived Proteoglycans. *International Immunopharmacology*, **6**, 1287-1297. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2006.04.002

[17] Deepalakshmi, K. and Mirunalini, S. (2016) Efficacy of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) P.kumm. on 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene Induced Mammary Carcinogenesis in Female Sprague-Dawley Rats. *New Horizons in Translational Medicine*, **3**, 73-82.

[18] Kong, F., Li, F., He, Z., *et al.* (2014) Anti-Tumor and Macrophage Activation Induced by Alkali-Extracted Polysaccharide from *Pleurotus ostreatus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, **69**, 561-566. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.045

[19] Reguła, J., Krejpcio, Z. and Staniek, H. (2016) Iron Bioavailability from Cereal Products Enriched with *Pleurotus ostreatus* Mushrooms in Rats with Induced Anaemia. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, **23**, 310-314. https://doi.org/10.5604/12321966.1203896

[20] Yang, Q., Huang, B., Li, H., *et al.* (2012) Gastroprotective Activities of a Polysaccharide from the Fruiting Bodies of *Pleurotus ostreatus* in Rats. *International Journal of*

Biological Macromolecules, **50**, 1224-1228.
https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.03.020

[21] Abdel-Monem, N.M., El-Saadani, M.A., Daba, A.S., *et al.* (2020) Exopolysaccharide-Peptide Complex from Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Protects against Hepatotoxicity in Rats. *Biochemistry and Biophysics Reports*, **24**, Article ID: 100852. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100852

[22] Zhu, B., Li, Y., Hu, T., *et al.* (2019) The Hepatoprotective Effect of Polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* on Carbon Tetrachloride-Induced Acute Liver Injury Rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, **131**, 1-9.
https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.043

[23] Dkhil, M.A., Diab, M.S.M., *et al.* (2020) Hepatoprotective Effect of *Pleurotus ostreatus* Extracts in Cadmium-Intoxicated Rats. *Journal of King Saud University—Science*, **32**, 3432-3436. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.09.029

[24] Zhang, Y., Wang, Z., Jin, G., *et al.* (2017) Regulating Dyslipidemia Effect of Polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* on Fat-Emulsion-Induced Hyperlipidemia Rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, **101**, 107-116.
https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.084

[25] Nweze, C.C., Ubhenin, A.E., Lay, T.U., *et al.* (2017) Hypoglycemic, Hepatoprotective and Hypolipidemic Effects of *Pleurotus ostreatus* in Alloxan-Induced Hyperglycemic Rats. *Tropical Journal of Natural Product Research*, **1**, 163-167.
https://doi.org/10.26538/tjnpr/v1i4.5

[26] Bobek, P., Ozdín, L. and Galbavý, Š. (1998) Dose- and Time-Dependent Hypocholesterolemic Effect of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Rats. *Nutrition*, **14**, 282-286. https://doi.org/10.1016/S0899-9007(97)00471-1

[27] Jayasuriya, W., Suresh, T.S., Abeytunga, D., *et al.* (2012) Oral Hypoglycemic Activity of Culinary-Medicinal Mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* (Higher Basidiomycetes) in Normal and Alloxan-Induced Diabetic Wistar Rats. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **14**, 347-355.
https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v14.i4.20

[28] Ravi, B., Renitta, R.E., Prabha, M.L., *et al.* (2013) Evaluation of Antidiabetic Potential of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Alloxan-Induced Diabetic Mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, **35**, 101-109.
https://doi.org/10.3109/08923973.2012.710635

[29] Nweze, C.C., Rasaq, N.O. and Istifanus, B.I. (2020) Ameliorating Effect of *Agaricus bisponus* and *Pleurotus ostreatus* Mixed Diet on Alloxan-Induced Hyperglycemic Rats. *Scientific African*, **7**, 1-6. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00209

[30] Mandal, M., Rakibuzzaman, B., Roqueya, L., *et al.* (2018) Anti-Diabetic Effect of Oyster Mushroom Mediates through Increased AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) and Cyclic Amp-Response Element Binding (CREB) Protein in Type 2 Diabetic Model Rats. *Bangladesh Journal of Medicine*, **17**, 661-668.
https://doi.org/10.3329/bjms.v17i4.38333

[31] Asrafuzzaman, M., Rahman, M.M., Mandal, M., *et al.* (2018) Oyster Mushroom Functions as an Anti-Hyperglycaemic through Phosphorylation of AMPK and Increased Expression of GLUT4 in Type 2 Diabetic Model Rats. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, **13**, 465-471.
https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2018.02.009

[32] Xiong, M., Huang, Y., Liu, Y., *et al.* (2018) Antidiabetic Activity of Ergosterol from *Pleurotus ostreatus* in KK-Ay Mice with Spontaneous Type 2 Diabetes Mellitus. *Molecular Nutrition & Food Research*, **62**, Article ID: 1700444.
https://doi.org/10.1002/mnfr.201700444

[33] Sangia, S.M.A., Bawadekji, A. and Ali, M. (2017) Comparative Effects of Metformin, *Pleurotus ostreatus*, *Nigella sativa*, and *Zingiber officinale* on the Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rats. *Pharmacognosy Magazine*, **13**, 179-188.

[34] Onuoha, S.C., Okoroh, P.N., Uwakwe, A.A., *et al.* (2021) Antihyperglycemic Effect of Ethanol Extract of Fruiting Bodies of Organically Cultivated *Pleurotus ostreatus* in High Sucrose High Fat Diet Streptozotocin Induced. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, **28**, 94-104.

[35] Agunloye, O.M. and Oboh, G. (2022) Blood Glucose Lowering and Effect of Oyster (*Pleurotus ostreatus*)- and Shiitake (*Lentinus subnudus*)-Supplemented Diet on Key Enzymes Linked Diabetes and Hypertension in Streptozotocin-Induced Diabetic in Rats. *Food Frontiers*, **3**, 161-171. https://doi.org/10.1002/fft2.111

[36] Thomas, P.A., Geraldine, P. and Jayakumar, T. (2014) *Pleurotus ostreatus*, an Edible Mushroom, Enhances Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase, Ascorbate Peroxidase and Reduces Xanthine Dehydrogenase in Major Organs of Aged Rats. *Pharmaceutical Biology*, **52**, 646-654. https://doi.org/10.3109/13880209.2013.863948

[37] Banukie, N., Jayasuriya, W.J.A., Wanigatunge, C.A., *et al.* (2015) Hypoglycaemic Activity of Culinary *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* Mushrooms in Healthy Volunteers and Type 2 Diabetic Patients on Diet Control and the Possible Mechanisms of Action. *Phytotherapy Research*, **29**, 303-309. https://doi.org/10.1002/ptr.5255

[38] Chorvathova, B., Bobek, P., Ginter, E., *et al.* (1993) Effect of the Oyster Fungus on Glycaemia and Cholesterolaemia in Rats with Insulin-Dependent Diabetes. *Physiological Research*, **42**, 175-179. https://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/42/42_175.pdf

[39] Ghaly, I.S., Ahmed, E.S., Booles, H.F., *et al.* (2011) Evaluation of Antihyperglycemic Action of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and Its Effect on DNA Damage, Chromosome Aberrations and Sperm Abnormalities in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Global Veterinaria*, **7**, 532-544.

[40] Dkhil, M.A., Diab, M.S.M., Lokman, M.S., *et al.* (2020) Nephroprotective Effect of *Pleurotus ostreatus* Extract against Cadmium Chloride Toxicity in Rats. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, **92**, 1-10. https://doi.org/10.1590/0001-3765202020191121

[41] Ahmed, O.M., Ebaid, H., El-Nahass, E.S., *et al.* (2020) Nephroprotective Effect of *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus* Extracts and Carvedilol on Ethylene Glycol-Induced Urolithiasis: Roles of Nf-κb, P53, Bcl-2, Bax and Bak. *Biomolecules*, **10**, Article ID: 1317. https://doi.org/10.3390/biom10091317

[42] Jayasuriya, W., Wanigatunge, C.A., Fernando, G.H., *et al.* (2015) Hypoglycaemic Activity of Culinary *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* Mushrooms in Healthy Volunteers and Type 2 Diabetic Patients on Diet Control and the Possible Mechanisms of Action. *Phytotherapy Research*, **29**, 303-309. https://doi.org/10.1002/ptr.5255

[43] Cerf, M.E. (2013) Beta Cell Dysfunction and Insulin Resistance. *Frontiers in Endocrinology* (*Lausanne*), **4**, 37. https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00037

[44] Grotto, D., Bueno, D.C.R., Ramos, G.K., *et al.* (2016) Assessment of the Safety of the Shiitake Culinary-Medicinal Mushroom, *Lentinus edodes* (Agaricomycetes), in Rats: Biochemical, Hematological, and Antioxidative Parameters. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **18**, 861-870. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i10.20

[45] Valverde, M.E., Hernández-Pérez, T. and Paredes-López, O. (2015) Edible Mu-

shrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. *International Journal of Microbiology*, **2015**, Article ID: 376387.
https://doi.org/10.1155/2015/376387

[46] Arques, S. and Ambrosi, P. (2011) Human Serum Albumin in the Clinical Syndrome of Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure*, **17**, 451-458.
https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2011.02.010

[47] Arthur, F., Terlabi, B., Larbie, C., *et al.* (2011) Evaluation of Acute and Subchronic toxicity of *Annona muricata* (Linn.) Aqueous Extract in Animals. *European Journal of Experimental Biology*, **1**, 115.
http://ir.knust.edu.gh/xmlui/bitstream/handle/123456789/10965/EJEB-2011-1-4-115-124.pdf?sequence=1

[48] Gupta, S.S. and Gupta, P.S. (2020) Serum Albumin and Total Protein Level as Plausible Marker for Diagnosis of Protein Energy Malnutrition in Children under Age 5 Years. *International Journal of Contemporary Pediatrics*, **7**, 1758-1761.
https://doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20203171

[49] Scheven, L., Joosten, M.M., de Jong, P.E., *et al.* (2014) The Association of Albuminuria with Tubular Reabsorption of Uric Acid: Results from a General Population Cohort. *Journal of the American Heart Association*, **3**, e000613.
https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000613

[50] Alam, N., Amin, R., Khan, A., *et al.* (2009) Comparative Effects of Oyster Mushrooms on Lipid Profile, Liver and Kidney Function in Hypercholesterolemic Rats. *Mycobiology*, **37**, 37-42. https://doi.org/10.4489/MYCO.2009.37.1.037

[51] Alam, N., Yoon, K.N., Lee, T.S., *et al.* (2011) Hypolipidemic Activities of Dietary *Pleurotus ostreatus* in Hypercholesterolemic Rats. *Mycobiology*, **39**, 45-51.
https://doi.org/10.4489/MYCO.2011.39.1.045

[52] Zhang, C., Li, S., Zhang, J., *et al.* (2016) Antioxidant and Hepatoprotective Activities of Intracellular Polysaccharide from *Pleurotus eryngii* SI-04. *International Journal of Biological Macromolecules*, **91**, 568-577.
https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.104

[53] Hashimoto, M., Shinozuka, K., Tanabe, Y., *et al.* (1998) Long-Term Supplementation with a High Cholesterol Diet Decreases the Release of ATP from the Caudal Artery in Aged Rats. *Life Sciences*, **63**, 1879-1885.
https://doi.org/10.1016/S0024-3205(98)00464-0

[54] Dong, Y., Zhang, J., Gao, Z., *et al.* (2019) Characterization and Anti-Hyperlipidemia Effects of Enzymatic Residue Polysaccharides from *Pleurotus ostreatus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, **129**, 316-325.
https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.164

[55] Abrams, D.I., Couey, P., Shade, S.B., *et al.* (2011) Antihyperlipidemic Effects of *Pleurotus ostreatus* (Oyster Mushrooms) in HIV-Infected Individuals Taking Antiretroviral Therapy. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **11**, 60.
https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-60

[56] Gordon, D.J., Probstfield, J.L., Garrison, R.J., *et al.* (1989) High-Density Lipoprotein Cholesterol and Cardiovascular Disease. Four Prospective American Studies. *Circulation*, **79**, 8-15. https://doi.org/10.1161/01.CIR.79.1.8

[57] Jacobs, D.R., Mebane, I.L., Bangdiwala, S.I., *et al.* (1990) High-Density Lipoprotein Cholesterol as a Predictor of Cardiovascular Disease Mortality in Men and Women: The Follow-Up Study of the Lipid Research Clinics Prevalence Study. *The American Journal of Epidemiology*, **131**, 32-47.
https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115483

[58] Huang, H.-H., Novikova, L., Janette, W.S., *et al.* (2011) Low Insulin Content of Large Islet Population Is Present *in Situ* and in Isolated Islets. *Islets*, **3**, 6-13. https://doi.org/10.4161/isl.3.1.14132

[59] Fujita, Y., Takita, M., Shimoda, M., *et al.* (2011) Large Human Islets Secrete Less Insulin per Islet Equivalent than Smaller Islets *in Vitro*. *Islets*, **3**, 1-5. https://doi.org/10.4161/isl.3.1.14131

[60] Arruda, E.H.P., Silva, G.L.V., Rosa-Santos, C.A., *et al.* (2020) Protein Restriction during Pregnancy Impairs Intra-Islet GLP-1 and the Expansion of β-Cell Mass. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **518**, 77-88. https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110977