



Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus Botucatu



INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
Departamento de Fisiologia

☎ (014) 6802-6251/6077 FAX: (014) 6821-3744
✉ Rubião Jr., s/n. Botucatu, SP. CEP:18618-000
18618000018.618-000

Trabalho de Conclusão de Curso

"Avaliação dos efeitos renais de extrato aquoso de *Agaricus blazei* Murril em ratos Wista *in vivo*"

Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria José Q. Freitas Alves

Estagiária: Fernanda Yamamoto Ricardo da Silva

Dezembro de 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Silva, Fernanda Yamamoto Ricardo da.

Avaliação dos efeitos renais do extrato aquoso de *Agaricus blazei* Murrill em ratos Wistar *in vivo* / Fernanda Yamamoto Ricardo da Silva. – Botucatu : [s.n.], 2011

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Maria José Queiroz de Freitas Alves

Capes: 2070204

1. Cogumelos medicinais – Efeito fisiológico. 2. Rins. 3. Pressão arterial.

Palavras-chave: Cogumelo-do-sol; Diurético; Pressão arterial; Rato.

"Avaliação dos efeitos renais do extrato aquoso de *Agaricus blazei* Murrill em ratos Wistar *in vivo*"

Resumo:

O *Agaricus blazei* Murrill (ABM), comumente conhecido como cogumelo-do-sol, tornou-se popular, devido sua utilização no tratamento de diversas doenças, uma vez que a população em geral lhe atribui diversos efeitos benéficos. Sendo assim, o cogumelo em questão é bastante estudado pelos pesquisadores, na tentativa de validar esses possíveis efeitos medicinais. O presente trabalho pretendeu avaliar os efeitos renais e adicionalmente os parâmetros cardiovasculares, analisando os efeitos do extrato aquoso de ABM em ratos Wistar *in vivo*. Estes estudos foram realizados em gaiolas metabólicas e os animais divididos em dois grupos: controle (n=8), onde os ratos recebiam uma picada para simular a injeção e experimental (n=10), onde os ratos recebiam 1mL de extrato aquoso à 2% por via intraperitoneal, ao longo do período tratado. Foram avaliados: o fluxo urinário de 24h, carga excretada de sódio (Qe Na⁺) e carga excretada de potássio (Qe K⁺) durante o período basal (30dias) e o período tratado (60 dias). Já os parâmetros cardiovasculares foram mensurados (com o sistema BIOPAC), ao fim do período de 60dias de tratamento. Por meio destas análises foi possível registrar uma queda aguda de pressão arterial nos ratos do grupo experimental, durante 15min, nesses ratos. Também foram observadas as respostas barorreflexas e a resposta bradicárdia foi menos acentuadas no grupo experimental após a administração de fenilefrina (5µg/kg) em comparação ao grupo controle (p<0,05). Os resultados de fluxo urinário de 24h, Qe Na⁺ e Qe K⁺ demonstraram que o extrato aquoso de ABM foi capaz de promover um aumento significativo (p<0,05) de 36%, 20% e 22%, respectivamente. Os resultados aqui apresentados, indicam que esse extrato tem princípios ativos natriuréticos e, além disso, o extrato apresentou uma redução acentuada após 15min da injeção do ABM, o qual pode ter sido por ação vasorelaxante ou por aumento do fluxo urinário, o que valida o extrato aquoso de ABM como uma boa alternativa no tratamento da hipertensão, como relatado pela população.

Palavras-chave: Cogumelo-do-sol, Diurético, Pressão arterial, Rato.

Introdução:

Existem várias espécies de cogumelos que são comestíveis e dentre elas algumas possuem substâncias com potencial efeito medicinal, sendo chamados cogumelos medicinais. Seu uso medicinal é relatado desde as antigas civilizações Gregas e Romanas, sendo também utilizados por cerca de três mil anos na medicina tradicional chinesa, como por exemplo: o *Ganoderma lucidum*, conhecido na China como Reishi, seu extrato possui, especialmente, propriedades anticancerígenas. (Mizuno et al., 1995a;1995b); ou o *Lentinula edodes*, cogumelo conhecido como Shitake, considerado um "elixir da vida" o qual possuiria propriedades de aumentar a energia vital e curar resfriados. (Mizuno, 1995a).

Outro cogumelo que vem ganhando destaque nas pesquisas é o *Agaricus blazei* Murrill (ABM), ou popularmente conhecido como cogumelo-do-sol, da vida ou de Deus, chamado no Japão de Himematsutake (princesa matsutake) e na China Ji Song Rong (Firenzouli et al, 2008).

O gênero *Agaricus sp.* pertencente a família *Agariaceae* na ordem *Agariales* e trata-se de um basidiomiceto com um corpo de frutificação que pode ter tamanho de pequeno a grande, tendo coloração branca, amarela e marrom no píleo, de lamelas livres de cor pálida ou rosada quando jovem depois tornando-se marrom achocolatado e basidiósporos que são lisos de cor castanho escuro. Este gênero é saprófitos e amplamente distribuídos nas áreas geográficas dos trópicos às regiões boreais (Geml et al 2004). A primeira descrição histórica desse gênero no uso medicinal foi, provavelmente, em tratados médicos de Bizantino, no Mediterrâneo, desde o século 4 d.C ao século 15 d.C. por Orivasios e Apuleius para tratar úlceras malignas da laringe (Ramoutsaki et Al, 2002).

O *Agaricus blazei* é um cogumelo nativo do Brasil, originário da vila de Piedade no interior de São Paulo, em área da floresta tropical Atlântica, próximo a Tauape. Após sua descoberta em 1960 por Takatoshi Furumoto, foi levado ao Japão em 1965 para análise, sendo então identificado foi pelo botânico Dr. Heinemann em 1967 (Mizuno 1995b).

Mizuno (2000) destaca em seu artigo que a identificação de *A. blazei* é controversa e esta espécie identificada e descrita por Murrill em 1945 é considerada típica da América do Norte e a espécie encontrada no Brasil é considerada de outra origem. Assim existiriam dois cogumelos identificados como *A. blazei*: *Agaricus blazei* ss. Murrill e *Agaricus blazei* ss. Heinemann. Sendo o segundo identificado por Heinemann em 1967 (Mizuno, 1995a) .

Segundo os estudos de Wasser et al(2002) além do local onde Murrill coletou pela primeira vez o *A. blazei* Murrill existem outros dois lugares na América do Norte que essa mesma espécie foi coletada, na Carolina do Sul e em uma na Florida, sugerindo se tratar de uma espécie endêmica da América do Norte. Ao comparar diversos aspectos de morfologia e crescimento dos cogumelos identificados por Murrill e o por Heinemann, eles devem ser tratados como duas espécies diferentes, portanto *A. blazei* ss Heinemann deve ser considerado uma nova espécie, classificado como: *Agaricus brasiliensis*. Contudo neste trabalho o *Agaricus brasiliensis* será tratado como *Agaricus blazei* Murrill (ABM), uma vez que a diferença entre estes cogumelos não é clara na maioria da literatura e seus nomes diferenciados ainda não são difundidos no meio científico.

Este cogumelo é conhecido por combater estresse físico e emocional, estimular o sistema imune, melhorar a qualidade de vida de diabéticos, reduzir o colesterol, prevenir osteoporose e ulcera péptica, tratar problemas circulatórios e digestivos, além ter ação antitumorais (Mizuno, 1995b). Estes conhecimentos da medicina tradicional são utilizados para a venda, em sites e na mídia de massa. Servindo para propósitos comerciais,

garantindo os benefícios do cogumelo, sem que haja qualquer demonstração clínica comprovada de seus efeitos (Firenzuoli, 2006; Dias et al, 2004). Vários grupos de pesquisa começaram a estudar o *A. blazei* no fim do século 20, depois que foram demonstradas suas propriedades antitumorais, isso despertou o interesse da população japonesa para o consumo deste cogumelo, resultando na exportação do mesmo para o Brasil. Dessa forma vários brasileiros cultivadores de cogumelo apostaram no ABM como uma forma de renda crescente, contudo combinando essa procura com o valor medicinal do produto fez com que muitos produtores registrassem marcas e nomes indicando a posse deste cogumelo como sua. O que dificulta a identificação das cepas pelos cientistas, de forma que o monopólio desse cogumelo não fique restrito e mesmo pequenos produtores possam cultivá-lo, permitindo que o cultivo seja mais barato e acessível aos consumidores brasileiros (Dias et al 2004). Além de existir uma coincidência entre o progresso dos estudos de ABM e o surgimento de novas patentes para os processos de isolamento, cultivo e suplementação nutricional, um dos motivos que faz sua identificação difícil.

Existem poucos estudos avaliando a possível função anti-hipertensiva do cogumelo-do-sol. Sabe-se que ele apresenta 40-45% de proteínas, 38-45% de carboidratos, 6-8% de fibras, 5- 7% de minerais e 3-5% de gordura, valores que foram medidos em relação à matéria seca, contendo ainda alto teor de potássio e cálcio (Mizuno et al., 1990), sendo essa talvez uma explicação para a diminuição da pressão arterial, como apresentada no trabalho de Singi et al (2006) e uma vez que o cálcio pode ativar os canais de potássio presentes na musculatura lisa dos vasos, causando um relaxamento dos vasos sanguíneos. Mizuno (2000) e Singi et al (2006), levantam a hipótese de um efeito vasodilatador em decorrência da secreção de óxido nítrico (NO).

Sabe-se que o ácido γ -aminobutírico (GABA), também tem atividade vasodilatadora (Kimura et al, 2004) e esse composto está presente no ABM, como também verificado por Tsai et al (2008). Além disso Kimura et al (2002) comprovaram que o consumo de GABA por ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e humanos, provocou redução na pressão arterial de ambos. Complementando, Firenzuli et al (2008) realizaram estudos clínicos, onde o ABM era administrado em humanos e a diminuição da pressão arterial foi registrada, relatando também estudos recentes com ratos SHR tratados regularmente com ± 1 mg/kg de GABA, os quais após algumas semanas já demonstravam efeitos hipotensivos.

Por outro lado, vem sendo relatado na literatura que os β -glucanos extraídos dos cogumelos *Lentinus edodes* (Shitake) e *Grifola frondosa* (Maitake) apresentam efeitos anti-hipertensivos em ratos. Maki et al (2007) também verificou que os β -glucanos extraídos da aveia promoveram diminuição da pressão arterial em humanos e por meio dos estudos de Camellini et al (2005) e Mantovani et al (2008) é possível supor que os β -glucanos, encontrados no *Lentinus edodes* e na aveia, também estão presentes no ABM.

Diuréticos são substâncias que aumentam o débito e o volume urinário, a maioria dos também aumenta a excreção de sódio e cloreto, sendo que entre os remédios utilizados em clínica em sua maioria diminui a taxa de reabsorção de sódio pelos túbulos, causando natriurese e então diurese. O uso mais comum dos diuréticos nas clínicas é com o intuito de reduzir o volume de líquido extra-celular, em especial nos casos de doenças associadas a edema e hipertensão (Guyton & Hall, 2006) e foi relatado por Silva et al (2010) uma diurese aumentada após a gavagem do extrato aquoso de ABM em ratos Wistar anestesiados.

Sendo assim, este projeto pretendeu estudar o efeito do extrato aquoso do cogumelo, *Agaricus blazei* Murill, sobre a função renal, através da medição do volume urinário,

excreção de sódio e potássio em ratos Wistar e também avaliar alguns parâmetros cardiovasculares.

Materiais e métodos:

Foram utilizados 18 ratos Wistar machos pesando aproximadamente 200g, provenientes do biotério Central da Unesp do Campus de Botucatu, aclimatados no biotério do Departamento de Fisiologia, onde o experimento foi instalado em temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Os animais foram divididos, ao acaso, em dois grupos: controle com (n=8), onde os animais receberam apenas uma picada para reproduzir o estresse de injetar o extrato (sham) e o experimental (n=10), onde os ratos receberam o extrato aquoso de ABM na concentração de 2%, via intraperitoneal.

O extrato aquoso de ABM era preparado diariamente, pelo método de decocção, na proporção de 10mL de água destilada para 1g do cogumelo (2%). O cogumelo foi cedido por um fornecedor local.

O experimento foi desenvolvido em gaiolas metabólicas, com apenas um rato em cada gaiola, durante aproximadamente três meses, segundo o protocolo experimental: a primeira semana destinada à aclimação dos ratos; nos 30 dias subsequentes (período basal) avaliamos os valores controles das variáveis estudada (período basal), em ambos os grupos. Por fim no 60 dias seguintes, considerado período tratado, onde os ratos do grupo controle eram submetidos à picada sem inoculação de nada (sham) e nos ratos do grupo experimental era injetado diariamente 1mL do extrato aquoso, no grupo experimental. Os ratos receberam diariamente água e ração *ad libitum*, sendo o consumo da ração acompanhado para registro da ingesta desses animais. O peso corporal de todos os animais foi mensurado de 7 em 7 dias.

A coleta de urina era feita diariamente em período de 24h, para avaliar o fluxo urinário. Uma amostra dessa urina era congelada para posteriores dosagens do sódio e potássio (Fotômetro de Chama Digimed – modelo NK200). Obtendo assim os valores de concentrações de Na^+ e K^+ de ambos os grupos durante todo o período do experimento, estes valores foram multiplicadas pelo fluxo urinário de cada período e animal correspondente. Dessa forma, encontrou-se a Carga Excretada de Sódio (Qe Na^+) e de Potássio (Qe K^+).

Ao final do experimento os animais foram submetidos a uma avaliação dos parâmetros cardiovasculares (pressão arterial, frequência cardíaca e barorreflexo), utilizando-se o sistema BIOPAC.

A pressão arterial média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) foram registradas em ratos não anestesiados. Para isso um dia antes dos registros, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (200 mg/kg, Dopalen®) associada a cloridrato de xilazina (100 mg/kg, Anasedan®) e foram submetidos a canulação da artéria femoral com um tubo de polietileno PE 10 (0.024”ODx0.011”ID), o qual foi conectado a um tubo de polietileno PE 50 (0.038”ODx0.023”ID). Simultaneamente, um segundo tubo de polietileno foi inserido na veia jugular para administração de drogas. Os cateteres foram conduzidos subcutaneamente e foram exteriorizados pelo dorso do animal, permitindo livre acesso de movimentos. No dia dos experimentos o tubo PE 50 foi conectado em um transdutor de pressão (TSD104A, Biopac Systems), acoplado a um registrador multicanal (Modelo M100A-CE, Biopac

Systems IC, Santa Barbara, Califórnia), conectado em computador para aquisição de dados. Uma solução de heparina (500 U/kg) foi utilizada para lavar os cateteres a fim de impedir formação de coágulos. No grupo experimental os animais foram tratados, após um período basal de registro, com 1mL do extrato aquoso de ABM (2%) intraperitonealmente, prosseguindo com um período de registro da pressão arterial média por 20 minutos.

Nestes mesmos animais após a aquisição de um novo período basal de registro (aproximadamente 10 min), foram injetados as drogas padrões para averiguar e registrar as respostas do barorreflexo: dose depressora de nitroprussiato de sódio (NPS, 30 µg/kg iv, doador de óxido nítrico para o músculo liso vascular) e dose pressora de fenilefrina (PHE, 5 µg/kg iv; agonista adrenérgico $\alpha 1$).

Ao final das análises com o sistema BIOPAC os ratos de ambos os grupos foram pesados e passaram por autópsia, que consistiu na retirada e pesagem dos seguintes órgão: coração, rins e fígado. Os valores obtidos eram depois transformados em gramas por 100g do peso corporal do indivíduo.

O tratamento estatístico dos dados foi realizado por meio de testes paramétricos, os quais foram calculados e comparadas as médias e as variâncias, pelo teste t de Student para amostras dependentes e independentes. Foram considerados significativos os níveis descritos (p) menores que 0,05 ($p < 0,05$).

Resultados:

O consumo médio de ração pelos ratos durante o experimento, encontra-se representado na Tabela 1. Os animais do grupo controle apresentaram um consumo diário de 30,72g no período basal e de 28,6g no período tratado e os ratos do grupo experimental apresentaram consumo diário de 32,4g e 30,3g no períodos basal e tratado respectivamente. Estes valores ao serem analisados pelo teste t de Student não foram estatisticamente significativos ($p > 0,05$).

| | GRUPO CONTROLE | GRUPO EXPERIMENTAL |
|--------------------|-------------------|-----------------------|
| PERÍODO BASAL | 30,72±2,31 | 32,4±3,11 |
| PERÍODO TRATADO | 28,6±2,1 | 30,3±2,5 |

Tabela 1 – Consumo médio de ração por dia (g), expresso em média±desvio padrão.

Ao realizar a autópsia ao final do experimento, foram retirados o coração, rins e fígado, o quais apresentavam aspecto e coloração normais nos ratos de ambos os grupos. A Tabela 2, apresenta dados dos pesos destes órgãos corrigido para 100g de peso corporal, não havendo alterações significativas ($p > 0,05$). Esses resultados apontam que o tratamento crônico com o extrato aquoso de ABM não tem efeitos tóxicos colaterais.

| | PESO DO RATO | CORAÇÃO 100g/PC | RINS POR 100g/PC | FÍGADO POR 100g/PC |
|---------------------|--------------|-----------------|------------------|--------------------|
| GRUPO CONTROLE | 487,43±11 | 0,3±0,005 | 0,8±0,03 | 3,8±0,2 |
| GRUPO EXPERIMENTA L | 493,44±20,26 | 0,31±0,01 | 0,8±0,02 | 4,13±0,11 |

Tabela 2 – Peso médio dos ratos (g) e valores médios do peso do coração, rins e fígado (g/100g), expressos em média±erro padrão.

Os dados apresentados na Figura 1, 2 e 3, mostram os valores médios±desvio padrão do fluxo urinário, $Q_e Na^+$ e $Q_e K^+$, respectivamente. Com relação ao fluxo urinário verificou-se aumento ($p<0,05$) nos animais do grupo controle (18%) e do grupo experimental (36%). Quanto a $Q_e Na^+$ e a $Q_e K^+$ foram significativos apenas os valores referentes ao grupo experimental, os quais apresentaram um aumento de 20% e 22%, respectivamente. Estes efeitos descritos, de aumento na $Q_e Na^+$ associada à diurese, são característicos de diuréticos alopáticos, ou seja, o aumento do sódio na luz tubular gera um aumento da força osmótica e em consequencia resulta em um aumento da excreção de água.

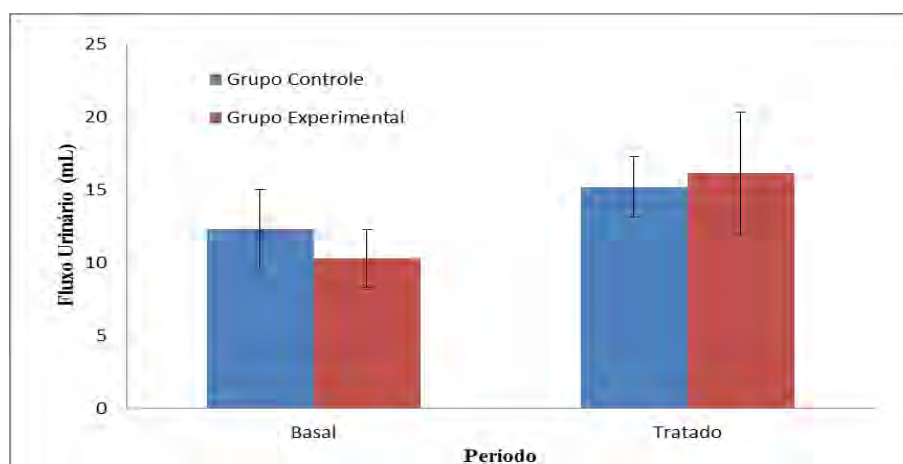


Figura 1 - Média e desvio-padrão referentes ao fluxo urinário (mL) segundo grupo e período.

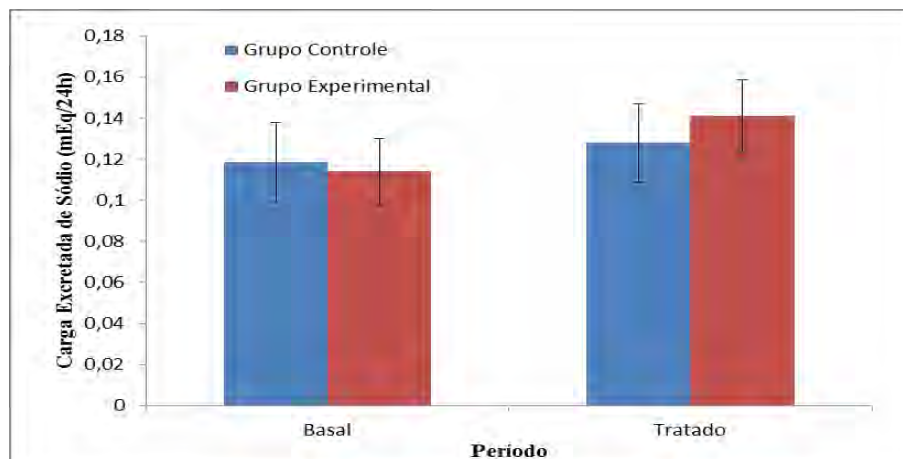


Figura 2 - Média e desvio-padrão referentes a carga excretada de sódio (mEq/24h) segundo grupo e período.

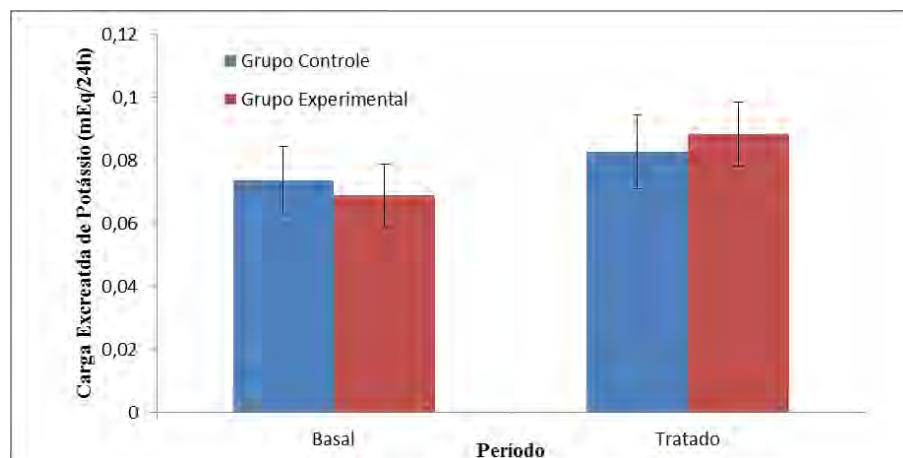


Figura 3 - Média e desvio-padrão referentes a carga excretada de potássio (mEq/24h) segundo grupo e período.

A avaliação da pressão arterial média e frequência cardíaca de todos os ratos do grupo experimental foi realizada no final do período tratado, após receberem uma injeção de 1mL do extrato aquoso de ABM (2%) intraperitonealmente, esses resultados encontram-se nas Figuras 4, referente a PAM e 5, referente a FC. Os gráficos mostram que após a administração do extrato aquoso registrou uma queda transitória da PAM, acompanhada de um aumento FC, nos tempos de 10 e 15 min, o que foi prontamente restabelecido nos 20 minutos da observação.

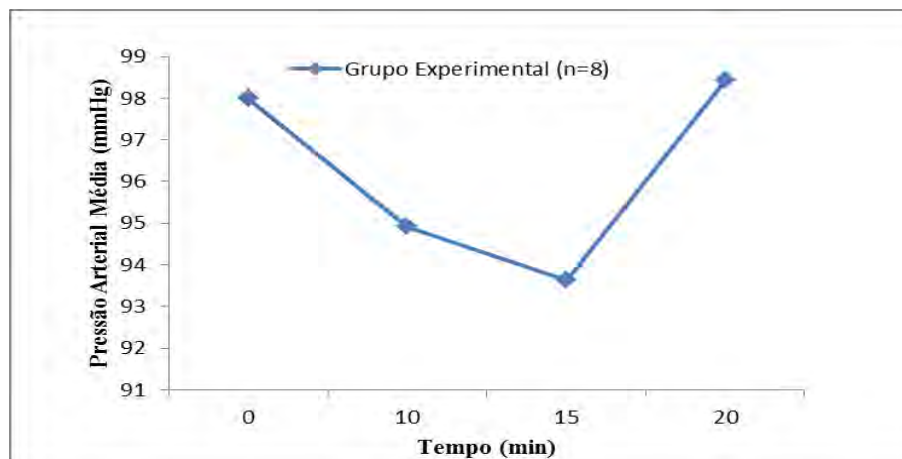


Figura 4 - Pressão arterial média (mmHg) do grupo experimental após a injeção intraperitoneal de 1mL do extrato aquoso de *Agaricus blazei* Murrill (2%), no tempo 0.

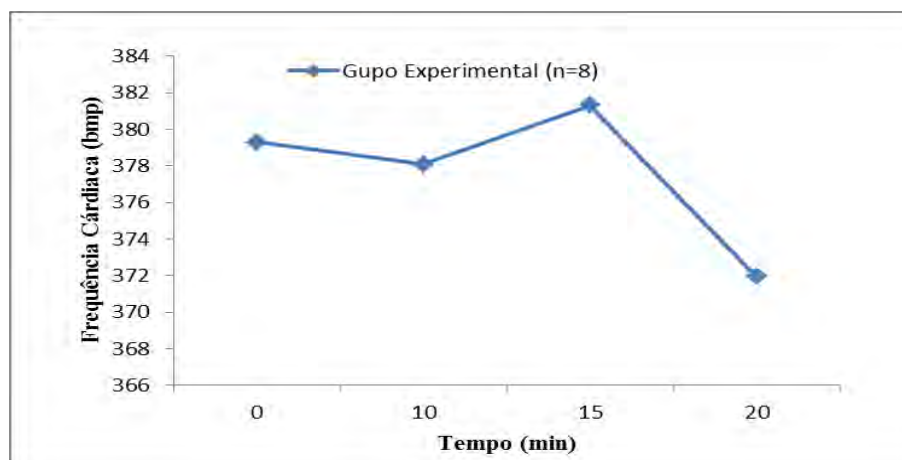


Figura 5 - Frequência cardíaca (bpm) do grupo experimental após a injeção intraperitoneal de 1mL do extrato aquoso de *Agaricus blazei* Murrill (2%), no tempo 0.

Outra análise feita, por meio do BIOPAC, foram estudos frente as respostas barorreflexas ao NPS e à PHE. A resposta bradicárdica a administração PHE (5 μ g/kg) foi menos acentuada no grupo experimental (Figura 6 e 7) o que indica que o Sistema Nervoso Autônomo (SNA) parassimpático parece estar menos ativado no grupo experimental ou que o SNA simpático estava mais acentuado. A administração crônica do extrato aquoso de ABM determinou uma resposta bradicárdica menor à PHE nos ratos do grupo experimental, o que pode indicar menor atividade do SNA parassimpático sobre o coração nesta situação. Além disso por meio do teste t de Student podemos dizer que a resposta bradicárdica diminuída do grupo experimental foi significativa ($p < 0,01$).

Já a resposta taquicárdica (Figura 6 e 8) ao teste com NPS (30 μ g/kg) não foi modificada pelo tratamento crônico do extrato aquoso, ou seja, a diferença nos resultados entre o grupo controle e experimental não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

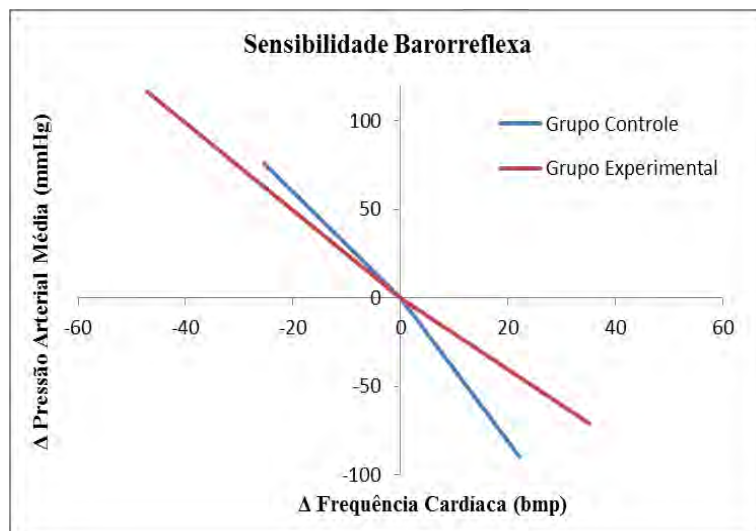


Figura 6 – A - Função dos reflexos cardíacos produzida por nitroprussiato de sódio (NPS, 30 μ g/kg); e por fenilefrina (PHE, 5 μ g/kg).

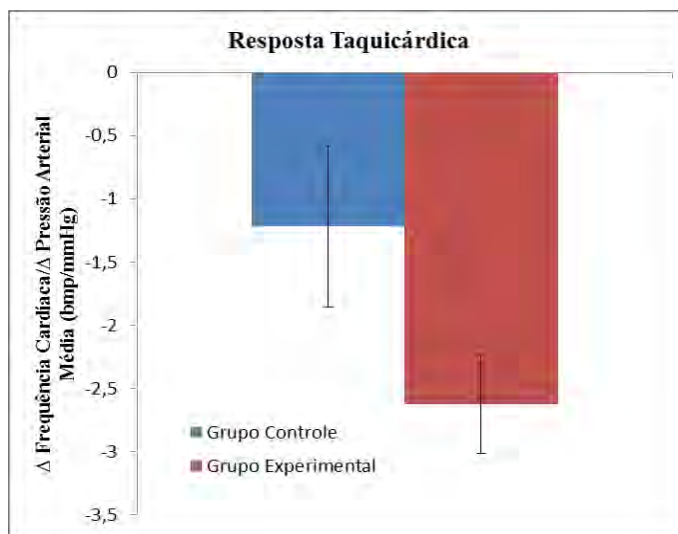


Figura 7 - Ganho barorreflexo para a resposta taquicárdica (bpm/mmHg) e seu erro padrão.

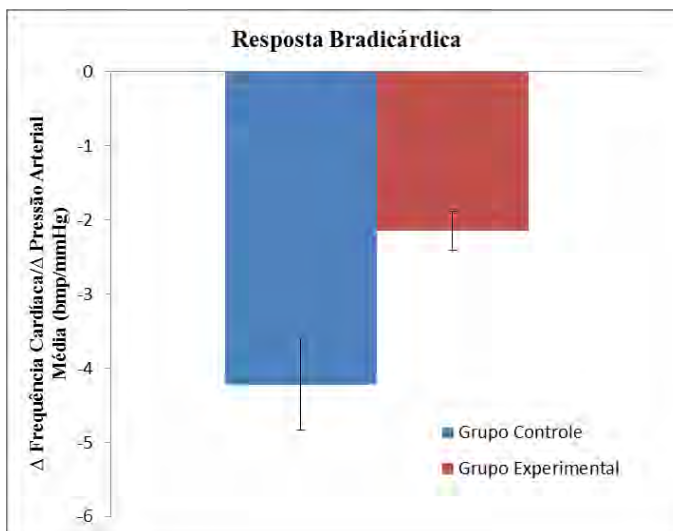


Figura 8 - Ganho barorreflexo para a resposta bradicárdica (bpm/mmHg) e seu erro padrão.

Discussão:

Analisando os dados apresentados pelas Tabelas 1 e 2, consumo médio de ração por dia e peso dos órgãos por 100g do peso corporal respectivamente, nota-se que o tratamento crônico com o extrato aquoso de ABM não teve efeitos adversos tanto com relação aos hábitos alimentares, como tóxicos aos órgãos dos ratos.

Os dados do fluxo urinário do grupo experimental foram estatisticamente significativos (Figura 1), esses valores condizem com os relatados nos estudos de Silva et al (2010), os quais apresentaram efeito diurético do extrato aquoso de ABM da ordem de 180%, em ratos Wistar anestesiados.

Analisando conjuntamente os dados das Figuras 1, 2 e 3 é possível indicar que o extrato aquoso de ABM possui características de um diurético alopático e que por apresentar aumento do fluxo urinário (36%), $Q_e Na^+$ (20%) e $Q_e K^+$ (22%), é possível considerá-lo um diurético de alça. Os quais segundo DeLucia et al (2007) e usado em situações de hipertensão associada a insuficiência renal e cardíaca, eles são agentes natriuréticos que atuam na porção espessa do ramo ascendente da alça de Henle. Sua alta potência diurética se deve a habilidade de inibir o co-transporte ativo de sódio – potássio – cloreto ($Na^+ - K^+ - Cl^-$) neste segmento, o que reflete no acúmulo de NaCl na luz tubular e consequentemente não haverá água livre para tornar a urina hipotônica na porção cortical do segmento diluidor. Essa inibição da reabsorção de NaCl corresponde portanto a uma volumosa eliminação de água e NaCl, assim como à eliminação do gradiente osmótico intersticial corticopapilar, impedindo temporariamente o funcionamento do sistema multiplicador de contracorrente do rim. Além de apresentar como efeito adverso a depleção de potássio e hipovolemia (DeLucia et al, 2007).

Os resultados de PAM (Figura 4) e FC (Figura 5), mostram que o extrato possui um efeito hipotensivo agudo, após 15min da administração do extrato nos animais, sendo que passados mais 5 min a pressão arterial já é restabelecida, ou seja, passados 20min após a injeção do extrato o rato restabelece seus valores fisiológicos. O que pode ser explicado como consequência do efeito diurético provocado nos ratos, ou seja, ao perder água por

causa do efeito diurético é feita uma regulação da volemia e, conseqüente, da pressão arterial. Deve-se considerar também que o ABM possui vários outros componentes em sua composição os quais podem influenciar na queda de pressão apresentada, como: a grande concentração de sódio e cálcio (Mizuno et al, 1990) sendo responsável por ativar os canais de K^+ da musculatura lisa dos vasos relaxando-os (Singi et al, 2006); a secreção de NO pode ser o agente vasodilatador, relatado por Mizuno (2000) e Singi et al (2006); a ação do GABA consumido regularmente possui efeitos hipotensivos como descrito por Firenzulli et al (2007); ou por último o efeito hipotensivo dos β -glucanos, como apresentados por *Lentinus edodes* e a aveia (Chen & Raimond, 2008 e Maki et al, 2007).

Em vista dos efeitos na pressão arterial média, fluxo urinário, $Q_e Na^+$ e K^+ , encontramos características no extrato aquoso de ABM de natriurese e vasorelaxantes, os quais são indicados na terapêutica de hipertensão.

Analisando a Figura 6, que apresenta a resposta reflexa de ambos os grupos, a única significância ($p < 0,05$) nos dados após a administração do extrato foi encontrada na resposta bradicárdica do grupo experimental, ou seja, após o tratamento crônico os ratos do grupo experimental apresentaram uma resposta modificada à PHE, sua resposta bradicárdica foi menos acentuada quando comparada ao grupo controle (Figura 8). É possível portanto, inferir que ao receber o extrato aquoso de ABM durante um período de 60 dias os ratos do grupo experimental tiveram seus mecanismos de resposta modificados pelo tratamento. Provavelmente o SNA simpático destes ratos se tornou mais ativado, no decorrer do tratamento, ou ainda pudesse especular que foi o SNA parassimpático quem estava menos ativado. Provavelmente deve haver uma relação entre a administração crônica do extrato aquoso de ABM com a resposta bradicárdica diminuída, sugerindo que a menor resposta bradicárdica seja decorrente das pequenas quedas de pressão arterial durante o período tratado, onde os ratos normotensos do grupo experimental ativaram mecanismos homeostáticos para restaurar os níveis controle de pressão arterial, dessa forma ao serem desafiados com a PHE ocorreu uma resposta diminuída de queda da FC.

Os resultados de fluxo urinário, $Q_e Na^+$ e $Q_e K^+$ do grupo experimental podem indicar que o efeito natriurético pode ter contribuído para redução da pressão arterial nos animais desse grupo e estas reduções podem ter influenciado na resposta à PHE. Cabe ressaltar que a dose utilizada foi igual do início ao final do experimento, mesmo havendo crescimento dos animais.

Por fim, conclui-se que o extrato aquoso de *Agaricus blazei* Murrill não apresentou qualquer efeito tóxico ao ser administrado de forma crônica. Os efeitos significativos de aumento no fluxo urinário, $Q_e Na^+$ e K^+ indicam que este cogumelo possui características natriuréticas. Além disso, a análise dos parâmetros cardíacos indicou que o extrato apresentou efeito hipotensivo agudo e a resposta bradicárdica foi modificada pelo tratamento, tornando-se menos acentuada. Portanto o presente estudo sugere que o ABM possui princípios bioativos que podem ser indicados no tratamento de hipertensão, embora os estudos devam ser ampliados e até mesmo testar o extrato aquoso de ABM em ratos SHR.

Agradecimentos:

Agradeço ao Auxiliar Acadêmico Departamento de Fisiologia da Unesp – Campus de Botucatu, Antonio Carlos de Barros Tardivo, à Professora Assistente Doutora do Departamento de Fisiologia da Unesp – Campus de Botucatu, Juliana Irani Fratucci de

Gobbi e ao Assistente Operacional do Departamento de Fisiologia da Unesp – Campus de Botucatu, Junior Vidotti, pessoas que sem as quais o presente trabalho não teria sido possível.

Referências:

1. MIZUNO, T.; SAITO, H.; NISHITOBA, T.; KAWAGISHI, H. Antitumoractive substances from mushrooms. *Food Reviews International*, v.11, p.23-61, 1995a
2. MIZUNO, T.; WANG, G.; ZHANG, J.; KAWAGISHI, H.; NISHITOBA, T.; LI, J. Reishi, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*: bioactiv substances and medicinal effects. *Food Reviews International*, v.11, p.151-166, 1995b
3. MIZUNO, T. Shiitake, *Lentinus edodes*: Functional properties for medicinal and food purposes. *Food Reviews International*, v.1, p.111-128, 1995a.
4. FIRENZUOLI, F.; GORI, L.; LOMBARDO, G. The Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murrill: Review of Literature and Pharmaco-Toxicological Problems. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. V.5, n.1, p.1-13. 2008.
5. GEML J, GEISER DM, ROYSE DJ. Molecular evolution of *Agaricus* species based on ITS and LSU rDNA sequences. *Mycological Progress*, v.3, n.2, p.157–176. 2004.
6. RAMOUTSAKI, I. A.; RAMOUTSAKIS, I. A.; PAPADAKIS, C. E.; HELIDONIS, E.S. Therapeutic methods for otolaryngological problems during the byzantine period. *The Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology*, v.111, p.553–557. 2002.
7. MIZUNO, T. K. *Agaricus blazei* Murrill: medicinal and dietary effects. *Food Reviews International*, v.11, p.167–172. 1995b.
8. MIZUNO, M.; SHIOMI, Y.; MINATO, K.; KAWAKAMI, S.; ASHIDA, H.; TSUCHIDA, H. Fucogalactan isolated from *Sarcodon aspratus* elicits release of tumor necrosis factor- α and nitric oxide from murine macrophages. *Immunopharmacology*, v.46, p.113-121. 2000.
9. WASSER, S. P.; DIDUKH, M. Y.; DE AMAZONAS, M. A. L.; NEVO, E.; STAMETS, P.; DA EIRA, A.F. Is a widely cultivated culinary-medicinal royal sun *Agaricus* (the Himematsutake Mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murrill? *International Journal of Medicinal Mushrooms*, v.4, p.267–90. 2002.
10. FIRENZUOLI, F.; GORI, L.; DI SIMONE, L.; MORSUILLO, M. Internet information about herbal products and dietary supplements. *Recenti Progressi in Medicina*, v.97, p.189–92. 2006.
11. DIAS, E.S.; ABE, C.; SCHWAN, R.F. Truths and Myths about the Mushroom *Agaricus blazei*. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v.61, n.5, p.545-549, sept/oct. 2004.
12. MIZUNO, T.; HAGIWARA, T.; NAKAMURA, T.; ITO, H.; SHIMURA, K.; SUMIYA, T.; ASAKURA, A. Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from “Himematsutake”, the fruiting body of *Agaricus blazei* Murrill. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.54, n.11, p.2889-2896. 1990.
13. SINGI, G.; DAMASCENO, D.D.; D’ANDRÉA, E.D.; ALEXANDRE, G.M.B.; SINGI, M.B.; ALVES, L.C.; SIMÕES, T.I. Efeitos agudos da aplicação endovenosa do cogumelo-do-sol (*Agaricus blazei* Murrill) sobre a pressão arterial média e a frequência cardíaca de ratos anestesiados. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v.16, n.4, p.480-484. Out/dez. 2006.

14. KIMURA, Y.; KIDO, T.; TAKAKU, T.; SUMIYOSHI, M.; BABA, K. Isolation of an anti-angiogenic substance from *Agaricus blazei* Murill: Its antitumor and antimetastatic actions. *Cancer Science*, v.95, n.9, p.758-764. 2004.
15. TSAI, S.Y.; TSAI, H. L. & MAU, J.L. Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* and *Boletus edulis*. *Food Chemistry*, Oxford, v.107, p.977-983. 2008.
16. KIMURA, M.; HAYAKAWA, K.; SANSAWA, H. Involvement of γ -aminobutyric acid (GABA) B receptors in the hypotensive effect of systemically administered GABA in spontaneously hypertensive rats. *Japan Journal of Pharmacology*, v.89, p.388-394. 2002.
17. MAKI, K. C.; GALANT, R.; SAMUEL, P.; TESSER, J.; WITCHGER, M. S.; MERCADO, J. D. R.; BLUMBERG, J. B.; GEOHAS, J. Effects of consuming foods containing oat beta-glucan on blood pressure, carbohydrate metabolism and biomarkers of oxidative stress in men and women with elevated blood pressure. *European Journal of Clinical Nutrition*, v.61: p.786–795, 2007.
18. CAMELINI, C. M.; MARASCHIN, M.; MENDONÇA, M. M.; ZUCCO, C.; FERREIRA, A. G.; TAVARES, L. A. Structural characterization of β -glucans of *Agaricus brasiliensis* in different stages of fruiting body maturity and their use in nutraceutical products. *Biotechnology Letters*, v.27, p.1295-1299, 2005.
19. MANTOVANI, M. S.; MARILANDA, F. B.; ANGELI, J. P. F.; OLIVEIRA, R. J.; SILVA, A. F.; RIBEIRO, L. R. β -Glucans in promoting health: prevention against mutation and cancer. *Reviews in Mutation Research*, v.658, n.3, p.154-161, 2008.
20. GUYTON, A.C.; HALL, J.E. (1956) *Tratado de fisiologia médica*. 11.ed. Rio de Janeiro: Elsevier , 2006. p.402.
21. SILVA, F. Y. R.; SHIOZAWA, L.; ALVES, M. J. Q. F. Efeitos diuréticos do extrato aquoso de *Agaricus blazei* Murrill, em ratos Wistar. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 9., 2010, Botucatu. Anais – IX Workshop de Plantas Mediciniais de Botucatu, 2010. p.27.
22. DELUCIA, R.; FILHO, R. M. O.; PLANETA, C. S.; GALLACCI, M.; AVELLAR, N. C. W. *Farmacologia integrada*. 3.ed. Rio de Janeiro: Editora Revinter; p. 371-372, 2007.
23. CHEN, J.; RAYMOND, K. Beta-glucans in the treatment of diabetes and associated cardiovascular risks. *Vascular Health and Risk Management*, v.4, n.6, p.1265–1272. 2008.