

Avaliação da toxicidade aguda do cogumelo *Agaricus sylvaticus*

Evaluation of acute toxicity of the *Agaricus sylvaticus* mushroom

Maria Rita Carvalho Garbi Novaes¹
Luiz Carlos Garcez Novaes¹
Andresa L. Melo¹
Viviane L. Recôva¹

¹ Escola Superior de Ciências da Saúde/
Fundação de Ensino e Pesquisa em
Ciências da Saúde, Brasília-Distrito
Federal, Brasil.

Correspondência:
Maria Rita C. Garbi Novaes
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP
Edifício FEPECS - SMHN- Quadra 03-
conjunto A- Bloco I-
Brasília - DF-CEP: 70707-7

RESUMO

Introdução: Os fungos *Agaricus sylvaticus* tem sido avaliados não somente como suplemento nutricional, mas também por seus efeitos imunofarmacológicos melhorando o prognóstico de pacientes com diferentes enfermidades.

Objetivo: Avaliar os efeitos de toxicidade aguda do extrato aquoso deste cogumelo, mediante parâmetros clínicos, bioquímico e histopatológico em ratos saudáveis.

Métodos: Ratos Wistar adultos jovens, machos (n=12) e fêmeas (n=12), foram divididos em grupos placebo e experimental. O grupo experimental recebeu dieta contendo 1,5g/kg/dia do extrato aquoso do *A. sylvaticus* - EAAS, por gavagem, a cada 2h e 40 min, durante o período de 24h, seguindo-se o protocolo da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (ANVISA, Brasil). Foi realizada a avaliação clínica dos animais por um período de 15 dias. O grupo placebo, submetido às mesmas condições ambientais, recebeu água por gavagem. A dose administrada aos animais (1,5g/kg/dia) foi mais alta do que as doses terapêuticas utilizadas em adultos como suplemento nutricional (0,1g/kg/dia).

Resultados: Foram observados que tanto a administração do extrato aquoso do *A. sylvaticus* como o placebo, provocou o surgimento temporário de apatia, alterações respiratórias e piloereção, que foram ligeiramente mais persistentes no grupo tratado com o fungo. Alterações bioquímicas e histopatológicas não foram estatisticamente significativas entre os grupos.

Conclusão: A administração de extrato aquoso de *Agaricus sylvaticus* demonstrou muito baixa toxicidade.

Palavras-chave: *Agaricus sylvaticus*, toxicidade aguda, animais.

Recebido em 25/outubro/2006
Aprovado em 07/março/2007

ABSTRACT

Introduction: Fungi *Agaricus sylvaticus* has been evaluated not only as nutritional supplement but also for its immune-pharmacological effects associated with the improvement of the prognosis of patients with different diseases. .

Objective: Evaluate the effects of acute toxicity, of this mushroom aqueous' extract, in healthy rats, through clinical, biochemical and histopathological parameters. **Methods:** Adult and young Wistar rats, male (n=12) and female (n=12) were divided into control and experimental groups. The experimental group received a diet containing 1,5g/kg/day of *A. sylvaticus* aqueous extract by gavage every 2 hours and 40 minutes during a period of 24 hours, followed by a protocol of The National Health Surveillance Agency (ANVISA, Brazil). The clinical assessment of the animals was done for a period of 15 days. The placebo group submitted to the same environmental conditions, received water through gavage. The dose of the *A. sylvaticus* aqueous extract administered to the animals (1,5g/kg/day) was higher than the therapeutical doses utilized in adult patients as a nutritional supplement (0,1g/kg/day).

Results: It was observed that not only the administration of *A. sylvaticus* aqueous extract but also the placebo, caused the temporary appearance of apathy, respiratory alterations and piloerection, that were slightly more persistent in the group treated with the fungus. Biochemical and histopathological were not statistically significant among the groups.

Conclusion: The administration of the *A. sylvaticus* aqueous extract induced very low toxicity. **Key words:** *Agaricus sylvaticus*, acute toxicity, animals.

INTRODUÇÃO

O uso de fungos da ordem *Agaricales* como fármaco-nutriente tem despertado grande interesse na investigação científica, no que tange aos efeitos no tratamento coadjuvante do câncer, além de outras enfermidades^{1,2}.

Estudos acerca da presença e dos mecanismos de ação antineoplásica de substâncias contidas em cogumelos da família *Agaricaceae*, demonstram que um dos principais componentes ativos é a 1-3-D-Beta-Glucana³⁻⁶. Entre os efeitos postulados da 1-3-D-Beta-Glucana está a atividade imunomoduladora, com inibição do crescimento tumoral, por estimulação de respostas celulares, em especial a produção de citocinas^{7,8}. Outros grupos de subs-

tâncias com propriedades farmacológicas encontradas são: ergosterol⁹, lecitina¹⁰, terpenóides¹¹, proteíno-glucana¹² e os aminoácidos imunomoduladores como a arginina e a glutamina^{13,17}.

Entre os fungos *Agaricales* com reputação terapêutica destacam-se: *Lentinula edodes* (Shiitake), *Grifola frondosa* (Maitake), *Agaricus blazei* (Himematsutake) e o *Agaricus sylvaticus* (*A. sylvaticus*, Cogumelo do Sol)¹⁵.

Os cogumelos *in natura* são constituídos aproximadamente de 90% de água. Os 10% restantes apresentam o seguinte percentual de composição: 10 a 40% de proteínas, 2 a 8% de lipídeos, 3 a

28% de carboidratos, 3 a 32% de fibras, 8 a 10% de sais minerais, além de possuírem quantidades apreciáveis de algumas vitaminas¹⁸.

O *A. sylvaticus* vem sendo utilizado como complemento nutricional por pacientes adultos com câncer, apresentando prováveis efeitos de inibição do crescimento e de regressão tumoral, estimulação do sistema imunitário e conseqüentemente possível melhoria da qualidade de vida e prognóstico do paciente¹.

Com o objetivo de estimar o risco associado à ingestão do cogumelo frente a sua crescente utilização como complemento nutricional, neste trabalho foi avaliado a toxicidade aguda do extrato de *A. sylvaticus* em ratos Wistar.

MÉTODOS

O estudo é laboratorial, experimental, duplo-cego, com alocação aleatorizada dos animais. Foi adotado como roteiro o protocolo da Resolução n° 90, de 16 de março de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que regulamenta os estudos pré-clínicos de toxicidade. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sem número, datado de 12 de abril de 2004.

O extrato aquoso do fungo *A. sylvaticus* (EAAS), cuja toxicidade desejava-se avaliar, foi obtido por infusão. Durante o processo de preparação da infusão, cogumelos desidratados foram imersos por 30 minutos em água filtrada com temperatura inicial a 100 °C e sujeita a decaimento natural. Foram utilizados porções de 200g de cogumelo e água suficiente para obter a infusão com densidade equivalente a 1,131g/mL. O líquido obtido, utilizado no experimento, foi envasado em frascos de vidro hermeticamente fechados e conservados a 4 °C.

A análise da composição do *A. sylvaticus* foi realizada pelo *Japan Food Research Laboratories Center* e revelou a presença de carboidratos (18,51g/100g), lipídeos (0,04g/100g), ergosterol (624 mg/100g), proteínas (4,99g/100g), aminoácidos (arginina-1,14%; lisina-1,23%; histidina-0,51%, fenilalanina-0,92%, tirosina-0,67%, leucina-1,43%, metionina-0,32%, valina-1,03%, alanina-1,28%, glicina-0,94%, prolina-0,95%, ácido glutâmico-3,93%, serina-0,96%, treonina-0,96%, ácido aspártico-1,81%, triptofano-0,32%,

cisteína-0,25%) e micronutrientes em quantidades traço.

O EAAS apresentava-se como uma solução castanha-turva com forte odor *sui generis* de cogumelo. A análise química demonstrou densidade de 1,131g/mL, pH 5,174, concentração de fenol de 0,1mg/g e resíduo seco de 85,68%.

Os ratos Wistar, de ambos os sexos, utilizados no experimento, eram de linhagem isogênica, obtidos em biotério certificado, com idade média de 80 dias e peso médio de 218,04g. Foram mantidos em gaiolas de polipropileno, devidamente identificadas, por cinco dias que antecedeu o experimento visando à ambientação dos animais. As gaiolas continham no fundo serragem de madeira. Os animais foram identificados individualmente em cada gaiola através da pintura de parte da cauda com cores diferentes, com tinta atóxica e resistente a água. Os grupos experimentais e controles permaneceram sob idênticas condições ambientais, em lugar arejado e em temperatura ambiente (equivalente à média local para a época do ano de aproximadamente 25 °C), no escuro e à luz artificial durante ciclos alternados de 12 horas, alimentados com água filtrada e ração Labina-Purina® *ad libitum*, disponibilizadas nos comedouros e bebedouros das gaiolas. A ração utilizada no estudo continha em sua composição arginina (1,5%), proteína (23,0%), minerais, (8,0%), fibras (9,0%) e vitaminas (traços).

Os ratos Wistar, machos ($n=12$) e fêmeas ($n=12$), foram distribuídos equitativamente por sexo, em quatro gaiolas. Os animais foram privados da alimentação sólida por um período de 14 horas antes do ensaio de toxicidade aguda, recebendo somente água. Este período seguiu o protocolo da ANVISA (Resolução n°90, de 16/03/2004). Cada animal do grupo experimental recebeu, por gavagem esofágica, 1 mL do EAAS a cada duas horas e 40 minutos, por um período de 24 horas. A dose de EAAS administrada foi de 1,5 g/Kg, 50 vezes a preconizada para uso oral em humanos, de 30mg/Kg/dia. Cada animal do grupo controle recebeu, pela mesma via e na mesma freqüência, 1 mL de água, constituindo o grupo controle. Uma hora após a administração do extrato aquoso, os animais voltaram a receber água e alimento *ad libitum*. A gavagem foi realizada inserindo-se uma cânula plástica, acoplada a uma seringa de injeção contendo o EAAS, na cavidade esofágica do animal imobilizado.

Após as administrações do extrato e do placebo, as reações clínicas foram registradas com observações realizadas a 0, 15, 30 e 60 minutos, a cada quatro horas, durante as primeiras 24 horas e diariamente, durante mais 13 dias.

Os parâmetros clínicos de toxicidade avaliados foram: apatia, alteração da locomoção, alteração respiratória, piloereção, alteração na consistência das fezes, sialorréia, alteração do tônus muscular, hipnose, convulsões, hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, contorções abdominais, autolimpeza, diminuição da fenda palpebral, presença de tremores, número de animais mortos e evolução ponderal. Foram relatados o tempo de aparecimento, progressão e reversibilidade dos sinais.

Foram considerados os seguintes critérios para assinalar positividade ou negatividade em relação aos parâmetros clínicos: para apatia, considerou-se a lentidão ou redução de intensidade de respostas aos estímulos do rato quando comparado aos demais; para alteração na locomoção, consideraram-se lesões no aparelho locomotor, paralisia de membro e conseqüente claudicação; para alteração respiratória considerou-se dispnéia ou taquipnéia; piloereção foi considerada quando o animal alterava o ângulo habitual dos pêlos, com tendência para a posição perpendicular à pele; a alteração na consistência das fezes foi considerada, quando era observada sujidade por material defecado na região perianal, associada à observação do excremento amolecido na gaiola; sialorréia, quando secreção de saliva hialina ou espumante era observada extravasando da cavidade bucal; alteração do tônus muscular, quando ocorreu hipo ou hipertonia; hipnose, quando o rato apresentava sonolência; convulsões quando ocorria movimentação tônico-clônica não coordenada e incontrolável; hiperexcitabilidade, quando o animal reagia exageradamente ao estímulo, comparando-se aos demais; contorções abdominais, quando o animal contorcia seu corpo com movimentos de flexão lateral da coluna vertebral ao nível lombar, simultaneamente à contração da musculatura abdominal; autolimpeza, quando o animal lambia o próprio corpo; roncos ou chiados respiratórios, quando eram ouvidos ruídos sincrônicos aos movimentos inspiratórios e expiratórios observados; diminuição da fenda palpebral, quando os olhos permaneciam entreabertos e tremores quando ocorriam movimentos musculares rápidos e involuntários sem perda de consciência.

A coleta de amostra para análise bioquímica foi realizada 15 dias após a administração do EAAS e placebo em material obtido por punção cardíaca, após

anestesia por via respiratória, com vapor de éter. O material foi coletado com agulha heparinizada e transferido para recipiente sem anticoagulante.

Foram realizadas dosagens de glicose, colesterol total, triglicerídeos, uréia, creatinina, transaminase glutâmico oxalacética, transaminase glutâmico pirúvica, proteínas totais, albumina, ácido úrico, amilase, bilirrubinas, ferro sérico e fosfatase alcalina. As dosagens bioquímicas foram realizadas com reagentes disponíveis comercialmente (Labtest[®]; Biodiagnóstica[®]; Biosystems[®]), por meio de reações enzimáticas-colorimétricas, colorimétricas ou cinéticas. As dosagens de uréia, proteínas séricas, glicemia, colesterol total e frações, triglicerídeos, transaminases, ferro sérico foram realizadas em aparelho da marca Opera[®]. A determinação de transaminases, glicemia, colesterol total e frações triglicerídeos e uréia foram realizadas seguindo método manual, com os reagentes fabricados pelas empresas Bayer[®] e Wiener Laboratory[®].

O estudo histopatológico foi realizado nos pulmões, intestinos, rins, estômago e fígado, para a avaliação de possíveis anormalidades macro e microscópicas, pela coloração de rotina, Hematoxilina e Eosina (HE)^{19,20}.

Os dados foram analisados utilizando-se análise de variância e teste t de Student. Foram considerados, como estatisticamente significativos, os resultados que apresentaram limite de significância para $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

O teste agudo não produziu mortalidade e não houve alteração ponderal estatisticamente significativa, comparando-se os grupos em que foram administrados EAAS e placebo, durante o período de análise de 15 dias. Os consolidados dos resultados referentes à variação de peso diária e ocorrência de óbito estão apresentados nas Tabelas: 1-a (Resultado do controle de peso e óbito dos animais machos) e 1-b (Resultado do controle de peso e óbito dos animais fêmeas).

As alterações clínicas e o respectivo consolidado dos resultados das observações realizadas nos intervalos 0, 15, 30, 60 minutos, a cada 4 horas, no primeiro dia e diariamente durante 14 dias estão apresentados na Tabela 2-a (Resultado do controle de alterações clínicas dos animais machos) e 2-b (Resultado do controle de alterações clínicas dos animais fêmeas).

TABELA 1-a

Resultado do controle de peso e óbito dos animais machos.

Parâmetro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Peso inicial	220,6	216,1	232,7	253,3	235,3	253	230,2	195,6	189,5	173,4	194,8	189,5	215,3
Peso final	286,9	206,3	206,9	178,5	251,1	286,3	205,1	254,9	221,7	232,5	251,8	213,6	232,9
Varição de peso**	66,3	-9,8	-25,8	-74,8	15,8	33,3	-25,1	59,3	32,2	59,1	57	24,1	17,6
Óbito***	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: * Os ratos numerados de 1 a 6 foram tratados com EAAS, de 7 a 12 receberam placebo.

** em gramas. (-) equivale à perda, (+) equivale a ganho.

*** (+) = parâmetro apresentado, (-) = parâmetro não apresentado.

TABELA 1-b

Resultado do controle de peso e óbito dos animais fêmeas.*

Parâmetro	Ratas*													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Peso inicial	243,9	218,4	221,9	199,5	208,4	228,2	203,6	203,8	203	209	201,1	207,1	208,4	203,4
Peso final	267,3	243,7	244,6	235	225,8	247,4	233,4	237,3	235,7	240,2	231,3	234,2	218,5	224,3
Varição de peso**	23,4	25,3	22,7	35,5	17,4	19,2	29,8	33,5	32,7	31,2	30,2	27,1	20,1	20,9
Óbito***	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: * Os ratos numerados de 1 a 6 foram tratados com EAAS, de 7 a 12 receberam placebo.

** em gramas. (-) equivale à perda, (+) equivale a ganho.

*** (+) = parâmetro apresentado, (-) = parâmetro não apresentado.

TABELA 2-a.

Resultado do controle de alterações clínicas dos animais machos.*

Parâmetro***	Ratos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Apatia	(0, 30, 60, 4h, 13, 14)	(0, 30, 60, 4h, 8h, 10, 11, 14, 15d)	(0, 30, 60, 4h, 3, 4, 6, 7, 8, 13, 14, 15d)	(0, 30, 4h, 8, 11, 12, 13, 14, 15d)	(0, 30, 4h, 5, 6, 7, 11, 15d)	(0, 30, 60, 4h, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15d)	(0, 15m, 12, 14)	(0, 15m, 60, 15d)	(0, 30, 60)	(13, 15)	(60, 15d)	(0, 60, 15d)
Alteração respiratória	0	0	(0, 30, 60, 10, 11, 14, 15)	(0, 30)	(0, 30, 10, 11, 12)	(0, 30, 2, 3, 12, 13, 14, 15d)		(11)				
Piloereção	0	(0, 60, 7, 9, 11)	(0, 8h, 4d, 6, 7, 11, 13, 14, 15d)	(0, 60, 8, 12, 3, 13)	(0, 60, 6)	(0, 13, 14)						

Diarréia	(5, 7, 11)	(4, 7, 8d, 9)	(8, 10)	(5, 6, 7, 10, 11)	(4d, 10, 14)	(9, 13)	(9, 15d)	(13)	(13)	(12d)	(8d, 9, 12d, 13)
Contorções abdominais	(9)	(7)		(5, 6, 7)	(3, 5)		(7)				(4h, 10, 12)
Autolimpeza		(10)								(10)	
Roncos ou chiados respiratórios				(10)	(12d)		(11)				
Diminuição da fenda plapebral					(13, 14, 15d)				(13)		

Legenda: * Consolidado de observações nos intervalos 0, 15, 30, 60 minutos, a cada 4 horas (8, 12, 16, 20 e 24) no primeiro dia e diariamente durante 14 dias.

**Os ratos numerados de 1 a 6 foram tratados com EAAS, de 7 a 12 receberam placebo

*** (Nº) = parâmetro apresentado. 0(s) número(s) entre parêntese equivale(m) ao momento da observação do sintoma. (-) = parâmetro não apresentado.

Os sinais clínicos de sialorréia, alteração na locomoção, alteração do tônus muscular, hipnose, convulsão, tremores e hiperexcitabilidade, não fo-

ram observados nos animais estudados do sexo masculino.

Tabela 2-b

Resultado do controle de alterações clínicas dos animais fêmeas.*

Parâmetro***	Ratas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Apatia	(0, 30, 4h)	(0, 30, 4h)	(0, 30)	(0, 8h, 4d, 12d, 13)	(0, 60, 4h, 4d)	(0, 30, 4d)	0	(60)				(0, 60)
Alteração respiratória	(0, 15m, 16)	0	0	0	(0, 16)	(0, 15m, 30, 7)						
Piloereção	0	(0, 60, 8h)	(0, 8h)	(0, 8h)	(0, 60, 8h, 6)	(0, 4d,						
Diarréia			(6, 7)			(4d)		(8d, 9)				(9)
Contorções abdominais			(7, 8)									
Autolimpeza						(10)		(60)				(60)

Legenda: * Consolidado de observações nos intervalos 0, 15, 30, 60 minutos, a cada 4 horas (8, 12, 16, 20 e 24) no primeiro dia e diariamente durante 14 dias.

**Os ratos numerados de 1 a 6 foram tratados com EAAS, de 7 a 12 receberam placebo

*** (Nº) = parâmetro apresentado. 0(s) número(s) entre parêntese equivale(m) ao momento da observação do sintoma. (-) = parâmetro não apresentado.

Os sinais clínicos de sialorréia, alteração na locomoção, alteração do tônus muscular, hipnose, convulsão, tremores, roncos ou chiados respiratórios, diminuição da fenda palpebral e hiper-

excitabilidade, não foram observados nos animais estudados do sexo feminino.

Em nenhum animal foram observadas alterações na locomoção, do tônus muscular, sialorréia, alteração, hipnose, convulsão, hiperexcitabilidade e tremores.

Diarréia e/ou diminuição na consistência das fezes teve incidência em 83,3% dos machos e 33,3% das fêmeas tratados com EAAS, 100% dos machos e 33,3% das fêmeas que receberam placebo. O aparecimento ocorreu aleatoriamente ao longo dos dias e houve reversão em todos os casos, exceto em um animal macho do grupo controle, que quando sacrificado, apresentava o sinal. A contorção abdominal, que ocorreu em 50% dos machos de ambos os grupos e em 16,6% das fêmeas do grupo experimental, foi associada à diarréia em todos os casos de ocorrência. A diminuição da fenda palpebral ocorreu em 16,6% dos machos dos grupos experimental e controle, também esteve associada à observação da presença de diarréia nas gaiolas, embora não fosse possível quantificar a diarréia por animal.

A apatia ocorreu em 100% dos machos, dos grupos experimental e controle e em 100% das fêmeas do grupo experimental e 50% das fêmeas do grupo controle, com reversão completa dos sinais nas fêmeas, persistência em 66,6% dos machos do grupo controle e 83,3% dos machos do grupo experimental, havendo maior correlação do sinal

com o sexo quando comparado ao tipo de substância utilizada. A apatia foi o sinal de maior prevalência e esteve associada em 67,3% ao período das 24 horas iniciais, quando ainda estavam sendo administradas as 10 doses de 1 mL do EAAS.

Roncos ou chiados respiratórios ocorreram em 33,3% dos machos do grupo experimental, 16,6% dos machos do grupo controle durante o período tardio de observação, décimo ao décimo segundo dia.

Embora tenham ocorrido em todos os grupos, quando se observa o número total de ocorrências, os sinais apatia e alterações respiratórias ocorreram em número de vezes maior nos grupos de animais machos e fêmeas, tratados com EAAS, 81 vezes versus 22 vezes nos grupos que receberam placebo e 36 vezes versus uma vez respectivamente e a piloereção ocorreu 41 vezes contra nenhuma vez nos animais tratados com EAAS de ambos os sexos.

As dosagens de elementos da bioquímica não apresentaram diferenças, estatisticamente significativas, entre os dois grupos, embora observando a média entre os grupos de machos e de fêmeas possa ser observada uma redução leve dos níveis de colesterol, glicose e triglicerídeos no grupo que recebeu o EAAS (Tabela 3).

Tabela 3

Parâmetros bioquímicos dos animais machos e fêmeas de grupos que receberam extrato de fungos *A. sylvaticus* ou solução placebo.

Resultados dos Exames de Bioquímica				
Exames (mg/dL)	machos com EAAS	fêmeas com EAAS	machos com placebo	fêmea com placebo
Glicose	174,67±8,69	123,40±2,87	128,00±8,26	125,00±3,7
Colesterol total	70,00±4,86	84,12±4,37	79,43±5,77	82,5±5,99
Triglicerídeos	73,33±8,85	116,83±47,85	118,14±9,37	118,30±14,80

Análise de variância. *t* de Student. *Limite de significância $p \geq 0,05$.

Não foram observadas alterações morfológicas celulares que tragam indícios de processo inflamatório, hiperplasia, ou mesmo, metaplasia nas amostras de tecido analisadas.

DISCUSSÃO

A dose diária 50 vezes maior que média utilizada por humanos (30mg/kg/dia) mostrou-se pouco tóxica nos animais do experimento.

A explicação para a hiperpnéia e piloereção durante os primeiros 30 minutos do experimento em cerca de 45% dos animais, que receberam o cogumelo, comparada a não apresentação nos animais dos grupos que receberam placebo, pode ser explicado por algum elemento presente, que resultou em uma solução de odor e sabor *sui generis* e desagradável, características do extrato utilizado, que se encontrava em apresentação bastante concentrada.

Existe relato de ocorrência de fenol em cogumelos comestíveis, inclusive no cogumelo *Agaricus syl-*

vaticus, em quantidades muito baixas. Não existe relato de existência de amanitina no *A. silvaticus*, presente em algumas espécies de cogumelos tóxicos.

Estudo da composição do *A. silvaticus* desidratado mostraram que ele apresenta quantidade de fenol equivalente a 0,1 mg/g. A dose letal de fenol para humanos adultos varia de 3 a 10g, enquanto para crianças varia de 0,4 a 1g. Tal substância pode causar intoxicações e aborto em grandes doses^{21,24}.

A ação do fenol em doses tóxicas pode ser local ou geral. A ação local é cáustica e manifestam-se por edemas, escaras e queimação, o que não foi constatado nos animais estudados. Porém, seus vapores produzem irritação ocular e bronquite^{21,23}, o que pode estar relacionado ao fato de 35% dos animais, que receberam a solução do cogumelo, ter apresentado fenda palpebral diminuída e rôncos respiratórios.

O fenol é absorvido rapidamente pelo trato gastrointestinal sofrendo reações de metabolização, hidroxilação, metilação e dihidroxilação, bem como a conjugação, possuindo meia vida curta. O fenol não metabolizado é eliminado pelo organismo, em quantidade muito pequena, principalmente pela urina, mas também pela bile, pelas fezes e pelo ar expirado²¹. Tais dosagens não foram avaliadas no presente estudo.

Quanto à sua ação geral, promove uma série de eventos no organismo, alcançando vários sistemas, mesmo em pequenas doses. A ingestão do fenol *in natura* provoca violenta gastroenterite com dores, vômitos e diarreias, além de forte odor característico^{21,24}.

O fenol tem ação acentuada sobre o sistema nervoso central com início de estimulação para em seguida resultar em depressão seguida de insuficiência respiratória com morte^{21,23}, o que não foi observado no experimento. Além disso, o mesmo promove a ocorrência de cefaléias, obnubilação, vertigens, fraqueza muscular, delírios, convulsão e coma com arreflexia e insensibilidade em humanos^{21,22}. O fenol também deprime consideravelmente a circulação, havendo queda da pressão arterial devido à ação vasodressora central e a sua ação sobre o miocárdio e vasos sanguíneos; suores frios; e taquicardia, podendo ocasionar pulso arritmico e morte^{21,24}. Tais alterações não puderam ser constatadas nos animais estudados.

Aproximadamente 57% dos animais tratados com o cogumelo apresentaram alterações na consistência das fezes, estando estas mais amolecidas, especialmente durante a 2ª semana do experimento. Por outro lado, mais da metade dos ratos que receberam água ao invés do EAAS também apresentaram fezes menos sólidas, fato este relacionado à elevada ingestão de água por parte desses grupos, já que tais alterações foram mais evidentes nos primeiros 4 dias do experimento. Além disso, em 50% dos animais dos grupos A e C (grupo experimental) foram observadas manifestações de dor abdominal acompanhadas de contorções abdominais, o que não ocorreu com os grupos B e D (controle). Não foi observada a ocorrência de vômitos em nenhum dos animais utilizados no estudo. É possível que os sinais intestinais apresentados sejam decorrentes a alguma virose que incidiu no período do experimento, uma vez que não houve concordância entre os grupos que utilizaram e não utilizaram EAAS, tanto machos como fêmeas.

Diarréias e contorções abdominais estiveram presentes em todos os grupos. Pode-se relacionar tal evento às repetidas manipulações sofridas por esses animais durante este período de tempo. Tal fato pode explicar o surgimento de sinais de toxicidade imediatamente após o início das gavagens e podem estar associado à autolimpeza, sobretudo entre o 6º e o 9º dias.

CONCLUSÃO

A administração de *Agaricus silvaticus*, em doses superiores às usadas nos protocolos terapêuticos em humanos, apresentou toxicidade muito baixa. Em virtude da alta concentração do extrato usado nos animais não produzir efeitos tóxicos e, portanto, o cogumelo se apresentar nocivo, a dose letal (DL50) do referido cogumelo não pode ser estabelecida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fortes R, Taveira V, Novaes MRCG. The immunomodulator role of B-D-glucans as co-adjuvant for cancer therapy. Revista Brasileira de Nutrição Clínica. 2006, 21:163-168.
2. Amazonas MALA. Importância do uso de cogumelos: Aspectos nutricionais e medicinais. Curso cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais – EMBRAPA, 2002.

3. Ebina T, Fujimiya Y. Antitumor effect of a peptidoglycan extracted of *Agaricus blazei* in a double grafted tumor system in mice. *Biotherapy*. 1998. 11(4): 259-65.
4. Sorimachi K, Akimoto K, Ikehara Y, Inafuku K, Okubo A, Yamazaki S. Secretion of TNF- α , IL-8 and Nitric Oxide by Macrophages Activated with *Agaricus blazei* Murill fraction in vitro- Cell Structure and Function. 2001, 26:103-108.
5. Novaes MRCG, Novaes LCG, Melo A., Recova V. Effects of the administration of *Agaricus sylvaticus* on the hematological and immunological functions of rats with Walker. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2004. 18(1):125.
6. Novaes MRCG, Fortes R., Recova V, Lima A. Hematological and immunological parameters in colorectal cancer patient six months of dietary supplementation with *Agaricus sylvaticus* mushroom. *Annals of Oncology*. 2007. 18(7): 36.
7. Hayes WA, Wright SH. Edible mushrooms. In: ROSE, A.H. *Economic microbiology: microbial biomass*. London: Academic Press, 1979.
8. Jong SC; Birmingham JM; Pai SH. Immuno-modulatory substances of fungal origin. *Journal of Immunol. Immunopharmacol.* XI, 1991.
9. Takeshi T, Yoshiyuki K, Hiromichi O. Isolation of an Antitumor Compound from *Agaricus blazei* Murill and its Mechanism of Action. *Journal of Nutrition*, 2001, 131:1409-1413.
10. Jenneman R, Bauer B, Bertalanffy H, Selmer T, Wiegandt H. Basidiolipids from *Agaricus* are novel immune adjuvants. *Immunobiology*. 2000, 2:277-89.
11. Kimura Y; Taniguchi M; Baba K. Antitumor and antimetastatic effects on liver of triterpenoid fractions of *Ganoderma lucidum*: mechanism of action and isolation of an active substance. *Anticancer Res*. 2002. 22(6A): 3309-3318.
12. Adachi Y, Ishii T, Ikeda Y, Hoshino A, Tamura H, Aketagawa J, Tanaka, S and Ohno N. Characterization of β -glucan recognition site on C-type lectin, Dectin-1, *Infection and Immunity* 2004; july:4159-71
13. Fortes RC, Novaes MRCG. Efeitos da suplementação dietética com cogumelos Agaricales e outros fungos medicinais na terapia contra o câncer. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2006, 52(4):363-371.
14. Novaes MRCG, Novaes LCG. Fármaco-nutrientes em cogumelos comestíveis Agaricales e outros basidiomicetos. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*. 2005. 20(3): 181-194.
15. Fortes RC, Novaes MRCG, Recova V, Melo A. Gastrointestinal alterations after three months of nutrition supplementation with *Agaricus sylvaticus* mushroom in patients with adenocarcinoma of gross intestine. *Public Health Nutrition*. 2006, 9(7A):237.
16. Novaes MRCG; Lima LAM; Ribeiro JEG; Souza MV. Efeitos da suplementação nutricional com L-arginina no tumor sólido de Walker 256. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2000, 50(3):230-236.
17. Novaes MRCG, Lima LAM, Novaes LCG, Souza MV. Metabolic and hematological effects of dietary supplementation with arginine on rats bearing ascitic Walker 256 Tumor. *Annals Nutrition Metabolism*, 2004, 48:404-408.
18. Resolução RE no. 90 de 16.03.2004. In: Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Brasil. 2004. Disponível em www.anvisa.gov.br/medicamentos/registro/legis.htm, acesso em 18/05/2004 às 19h.
19. Beçak WS, Paulete J. Técnicas de citologia e histopatologia. vol. 1. Ed. Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 1976.
20. Schmitt FC. Autópsias, biópsias e citopatologia: O que são e como são utilizadas. In: Montenegro, M.R. & Franco. M. "Patologia: processos gerais". 3ª. Ed. Atheneu, São Paulo. 1992.
21. Filho DB. Toxicologia Humana e Geral, 2ª. Edição, Editora Atheneu, Rio de Janeiro, 1988.
22. Alcântara HR, Brasil OAM, Toxicologia Geral, Editora Andrei S.A., São Paulo, 1974.
23. Buzzo A, Toxicologia, 4ª. Edição, Editora Lopes e Etchegoyen, Buenos Aires, 1952. Disponível em www.anvisa.gov.br/medicamentos/registro/legis.htm, acesso em 18/05/2006 às 19 horas.
24. Fühner H. Toxicología Médica, 3ª. Edição, Editor Científico Médico, Barcelona, 1956.

O artigo foi apresentado, parcialmente, no 27th ESPEN Congress, The European Society for Clinical Nutrition and Metabolism, 2005, Bélgica.