

divididas em três grandes blocos: o primeiro bloco contendo informações gerais referentes à propriedade e ao proprietário; o segundo contendo informações acerca do tipo de produção e procedimentos adotados; e o terceiro com informações relativas ao nível de apoio / assistência técnica recebido. Ao final, constaram questões abertas. Foram ainda realizados registros fotográficos nas respectivas áreas (não apresentados).

Agradecimentos

Os autores agradecem Afonso Schroeder, Arildo Oliveira Franco, Dalnei Serighelli, Estefano Dranka, Jorgeth Alexandra Gonçalves, Marta Cousseau e Mauro Scharnik pela gentileza em colaborar e prestar as informações, que possibilitaram a realização deste trabalho.

Referências

- Farias, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (coord.). Farmacognosia - da planta ao medicamento, Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. da UFSC, p.197-220, 1999.
- British Herbal Pharmacopoeia. 4.ed., Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 1996.
- Magalhães, P.M. O que é qualidade pós-colheita em plantas medicinais? Agroecologia Hoje, Botucatu, n.6, p. 22-23, 2001.
- Guedes, A.C.L. O mercado de plantas medicinais. Agroecologia Hoje, Botucatu, n. 6, p.17-18, 2001.
- Reis, M.S.; Mariot, A. Diversidade natural e aspectos agrônômicos de plantas medicinais. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (Coord.) Farmacognosia - da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. da UFSC, p. 39-60, 1999.
- Ribeiro, M.F.S.; Miranda, M.; Miranda, G.M.; Chaimsohn, F.P.; Benassi, D.A.; Gomes, E.P.; Milleo, R.D.S. Diagnóstico de sistemas de produção. In: Seminário sistemas de produção: conceitos, metodologias e aplicações. Anais, Curitiba: UFPR, p. 26-43, 1999.
- Magalhães, P.M. O que é e como será a certificação das plantas medicinais? Agroecologia Hoje, Botucatu, n. 6, p.20-21, 2001.
- Montanari Júnior, I. Aspectos legais da produção comercial de plantas medicinais. Agroecologia Hoje, Botucatu, n. 6, p. 25-26, 2001.
- Carraschi, L.; Zaupa, C.; Silva, E.A.; Chanke, A.L.S.; Ushirobira, T.M.A.; Marques, L.C. Controle de qualidade farmacobotânico de produtos fitoterápicos em Maringá (PR). Agroecologia Hoje, Botucatu, n. 6, p. 23-24, 2001.

*Autor para correspondência:

Profa. Ms. Nilce N. Caetano
 Profa. do Departamento de Farmácia
 Setor de Ciências da Saúde
 Universidade Federal do Paraná
 R. Prefeito Lothário Meissner, 3400
 CEP 80210-170 - Curitiba (PR)
 E-mail: nilce@cce.u7pr.br

Tratamento tópico de coelhos com *Agaricus blazei* Murril após envenenamento botrópico experimental

Ferreira, K.M.¹; Melo, M.M.^{1*}; Dantas-Barros, A.M.²

¹ Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária

² Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a utilização do cogumelo *Agaricus blazei* Murril (5%) na terapêutica tópica do envenenamento experimental de coelhos por *Bothrops alternatus*, visando a antagonização dos efeitos locais (edema, hemorragia e necrose) provocados por esse veneno. Os resultados finais mostraram um menor grau de edema e do halo hemorrágico no grupo tratado quando comparados com o grupo controle (salina).

Abstract

In this contribution, the mushroom *Agaricus blazei* Murril was investigated for its properties against the local effects of *Bothrops alternatus* venom in rabbits to antagonize the local effects (edema, hemorrhage and necrosis). The results showed that the group treated with *Agaricus blazei* had smaller edema and hemorrhage than Control group (saline).

Os acidentes ofídicos constituem um sério problema médico, social e econômico no Brasil e 90% desses, são causados por espécies do gênero *Bothrops*¹.

O veneno botrópico é constituído por uma complexa mistura de enzimas, toxinas e peptídeos, que produz um quadro patofisiológico caracterizado por alterações locais (inflamação, edema, formação de vesículas, necrose e intensa dor) e alterações sistêmicas (hemorragia, choque hipovolêmico e desordens da coagulação), que podem levar a falência renal aguda^{2,3}.

O tratamento específico em casos de envenenamento botrópico é a administração do soro antibotrópico⁴. Se esse é administrado rapidamente, a neutralização dos efeitos sistêmicos é usualmente conseguida com sucesso, mas a antagonização das lesões locais é uma questão mais difícil^{5,6}. Em muitos casos, a incapacidade da reversão das alterações locais resulta em necrose com perda de estruturas mais profundas como músculos e tendões, resultando em seqüelas irreversíveis⁷.

Devido à relevância dos efeitos locais no envenenamento botrópico, vários grupos de pesquisa tem estudado esse problema sob diferentes perspectivas⁸.

Os cogumelos são utilizados desde os tempos mais remotos com finalidades medicinais para combater hemorragias, cólicas, feridas, asma, sendo que uma das aplicações mais importantes dos cogumelos na medicina humana, é a ação anti-tumoral⁹. Tem sido descritos vários efeitos benéficos da terapêutica com o *Agaricus blazei* Murril, entre elas a ação anti-

alérgica e de inibição de lesão hepática¹⁰.

Neste presente trabalho, o cogumelo *Agaricus blazei* Murril foi testado como tratamento tópico em coelhos experimentalmente envenenados com *Bothrops alternatus*.

Logo após a inoculação do veneno, os coelhos ficaram apáticos, com anorexia, e apresentaram aumento da temperatura corporal (hipertermia). Em geral, no local de inoculação do veneno, a pele dos coelhos apresentou uma zona de cor

vermelho-púrpura. Essa área corresponde à intensa hiperemia e hemorragia do tecido subcutâneo, presentes no envenenamento botrópico^{1,2,3}. Os resultados da avaliação clínica estão indicados na tabelas 1.

Com relação ao grau de edema cutâneo (tabela 1), o grupo do *Agaricus blazei* Murril (Grupo II) apresentou valores maiores que o grupo controle nas primeiras 4 h. Porém, após 4 tratamentos (24 h), esses valores foram reduzindo drasticamente (figura 1), não sendo mais observado edema cutâneo no 5º dia.

Tabela 1. Avaliação de parâmetros clínicos (cm) de coelhos envenenados experimentalmente com *Bothrops alternatus* e tratados com *Agaricus blazei* Murril em diferentes tempos

| | TempoGrupo | horas | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|------------|-------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-------|-----|-----|-----|-----|
| | | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 24 | 30 | 48 | 54 | 72 | 96 | 120 | 144 |
| Grau de edema | GI | 0,4 | 0,4 | 0,5 | 0,5 | 0,8 | 0,8 | 0,5 | 0,5 | 0,4 | 0,5 | 0,3 | 0,2 |
| | | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,4 | 0,8 | 0,8 | 0,7 | 0,7 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0 |
| | | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0,6 | 0,2 | 0,1 | Óbito | | | | |
| | GII | 0,6 | 0,6 | 0,6 | 0,6 | 0,5 | 0,5 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0 | 0 |
| | | 0,4 | 0,6 | 0,7 | 0,7 | 0,6 | 0,6 | 0,4 | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0 | 0 |
| | | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 0,6 | 0,5 | 0,5 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0 | 0 |
| Diâmetro do halo hemorrágico | GI | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 0,9 | 0,9 | 0,9 | 0,9 | 0,9 | 0,8 | 0,5 | 0 |
| | | 0,6 | 0,6 | 0,7 | 0,7 | 2,07 | 3,2 | 1,7 | 1,7 | 1,5 | 1,1 | 1,0 | 0,7 |
| | | 0,6 | 0,7 | 0,7 | 0,7 | 3,5 | 3,8 | 3,8 | Óbito | | | | |
| | GII | 0,9 | 0,9 | 0,9 | 0,8 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0,8 | 0,8 | 1,0 | 1,0 | 0,6 | 0,6 | 0,6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,0 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Área de necrose | GI | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 | 0,5 | 0,7 | 0,7 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | Óbito | | | | |
| | GII | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,4 | 0,4 | 0,3 | 0,3 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,5 | 0,5 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,7 | 0,7 | 0,6 | 0,6 | 0,6 |

Grupo I: Grupo Controle.

Grupo II: *Agaricus blazei* Murril (0,5%)

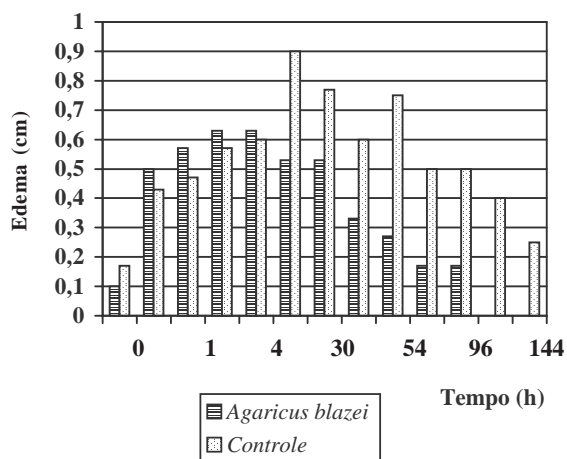


Figura 1. Valores médios do grau de edema (cm) de coelhos envenenados com veneno de *Bothrops alternatus* e tratados com *Agaricus blazei* Murril em diferentes tempos.

O veneno botrópico promove a liberação de substâncias farmacologicamente ativas (bradicinina, serotonina, histamina) e outros mediadores do processo inflamatório (prostaglandinas, leucotrienos, PAF), causando edema e inflamação⁷. Como pode-se observar, o tratamento tópico com *Agaricus blazei* Murril (5%) foi capaz de reduzir o edema quando comparado com a solução salina. Isto se deve possivelmente à sua ação anti-alérgica, já descrita por¹⁰, resultando numa menor liberação de histamina.

Apesar dos valores do halo hemorrágico no grupo tratado com *Agaricus blazei* Murril (tabela 1) sofrerem um discreto aumento durante os tratamentos iniciais, 24 horas após, esses valores sofreram uma drástica redução, desaparecendo às 54 horas. De forma contrária, o grupo controle (GI) apresentou um aumento do diâmetro hemorrágico nos tempos 24, 30 e 54 horas, sendo visualizado em um animal até 144 horas (6º dia)

após a inoculação do veneno botrópico (figura 2). Estes resultados corroboram com Chihara⁹, que descreveu os efeitos anti-hemorrágicos dos cogumelos.

A hemorragia local nos envenenamentos botrópicos ocorre devido aos danos extensivos sobre os tecidos e as paredes dos vasos, pela ação de metaloproteases, que degradam o colágeno tipo IV, levando ao colapso da estrutura capilar¹¹. Além disso, existe no local da inoculação, uma isquemia provocada por microtrombos e compressão devido ao edema formado¹². O *Agaricus blazei* (5%) poderia agir como um inibidor enzimático das enzimas que possuem atividade hemorrágica e proteolítica presentes no veneno botrópico ou poderia possuir uma ação anti-toxina direta ou ainda, inibir a via da ciclooxigenase (produtos ecosanóides). Também, não se pode excluir a ação do *Agaricus blazei* sobre os mecanismos imunológicos, já que sua principal ação é anti-tumoral¹³.

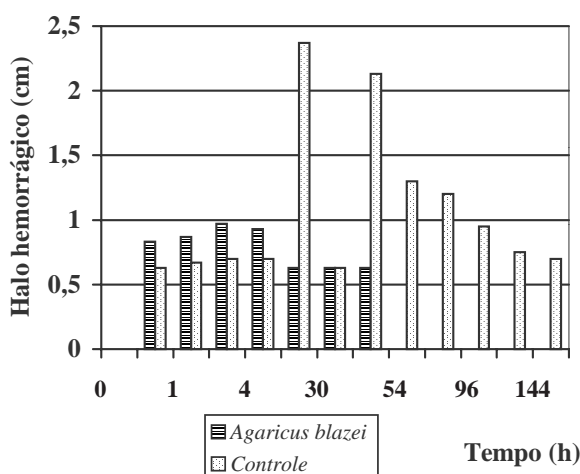


Figura 2. Valores do halo hemorrágico (cm) de coelhos envenenados com veneno de *Bothrops alternatus* e tratados com *Agaricus blazei* Murril em diferentes tempos.

Necrose cutânea foi observada em ambos os grupos 24 horas após a inoculação de veneno botrópico (figura 3), sofrendo discreta redução após os tratamentos, porém presente até o 6º dia (tabela 1).

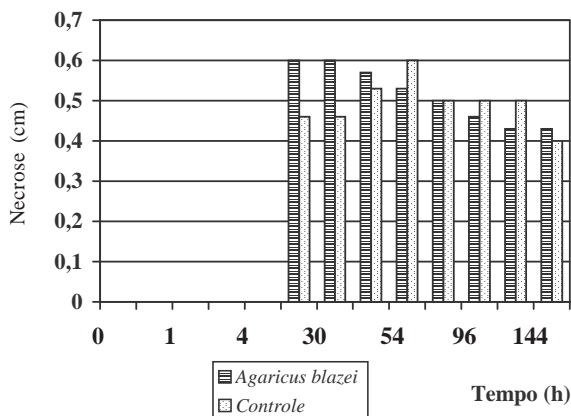


Figura 3. Valores médios da área de necrose (cm) de coelhos envenenados com veneno de *Bothrops alternatus* e tratados com *Agaricus blazei* Murril em diferentes tempos.

Deve ser ressaltado que no Grupo Controle um animal foi a óbito às 54 horas, sendo necropsiado imediatamente. Foram observadas as seguintes alterações: área de ulceração cutânea, comprometendo a derme e tecido subcutâneo ao redor do ponto de inoculação do veneno, edema e hemorragia difusa no tecido subcutâneo na área lombar, aprofundando-se para o tecido muscular; coração com parede ventricular flácida, cianótico e vasos proeminentes com coágulo nas duas câmaras cardíacas, pulmões rosados com presença de hemorragia petequial e edema, rins apresentando aspecto pálido, baço pálido e com presença de hemorragia tipo petequial³.

Outro fator benéfico é que no grupo tratado com *Agaricus blazei* Murril (5%) não houve óbito. Sabe-se que grande parte do veneno inoculado vai para o fígado e rins para metabolização e excreção respectivamente, sendo descritos aumentos séricos de enzimas hepáticas como aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase. Como o *Agaricus blazei* Murril possui ação inibitória de lesão hepática descrita por Iwaide¹⁰, provavelmente este efeito tenha contribuído para a sobrevivência dos animais.

Como até o presente momento não se sabe qual é o mecanismo de ação do *Agaricus blazei* Murril outros experimentos estão sendo repetidos, alterando-se a via de administração, dose e concentração.

Este estudo mostra que o tratamento tópico com o *Agaricus blazei* Murril (5%) em glicerol causa redução do grau de edema e halo hemorrágico no envenenamento botrópico experimental em coelhos abrindo perspectivas para um possível tratamento complementar nesse tipo de envenenamento.

Materiais e Métodos

Material teste: Amostras de *Agaricus blazei* Murril foram coletadas na cidade de Itabirito, Estado de Minas Gerais, em agosto de 2001 e identificadas pela Dra. Arailde Fonte Urben (EMBRAPA). Após as coletas, os cogumelos foram lavados sob jato de água destilada e secos em estufa ventilada a 38 °C durante 24 h, sendo em seguida pulverizados em moinho. O pó (5 g de material seco pulverizado) foi incorporado em 100 ml de glicerol, macerado durante 30 min e a solução final obtida foi mantida à temperatura de 4 °C.

Animais: Foram utilizados seis coelhos, albinos, machos de peso médio de 1 kg. Esses animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, contendo três animais em cada grupo. Após assepsia local, realizou-se uma área de tricotomia de aproximadamente 6 cm de diâmetro, na região dorsal, próximo a escápula de todos os animais.

Veneno: Veneno liofilizado de *Bothrops alternatus* (1,0 µg) foi diluído em 100 µl de solução salina (0,9%) e injetado via intradérmica nas costas depiladas de cada coelho.

Avaliação clínica: Todos os animais foram avaliados clinicamente antes e após a inoculação do veneno. Após a inoculação do veneno, cada grupo recebeu o seguinte tratamento tópico: grupo I - 1 ml de soro fisiológico 0,9% (grupo controle) e grupo II - 1 ml do macerado de *Agaricus blazei* Murril (5%), nos seguintes tempos: 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 24 h, 36 h, 48 h, 54 h, 72 h, 96 h, 120 h e 144 h.

Antes de cada tratamento descrito acima, a avaliação clínica da ferida foi conduzida usando os seguintes parâmetros: diâmetro de halo hemorrágico, grau de edema, sangramento e lesão de pele (necrose). A atividade do edema foi estimada por paquímetro e o desenvolvimento do halo hemorrágico foi determinado na pele íntegra (sem remoção da mesma), através de régua com gabaritos circulares em centímetros (diâmetro). No animal que foi a óbito realizou-se necropsia.

Referências

- ¹ Cardoso, J.L.C. Snakebites at hospital Vital Brasil. A study of 2908 cases. *Toxicon*, v. 23, p. 558, 1985.
- ² Rosenfeld, G. Symptomatology, pathology and treatment of snake bites in South America. In: Bucherl, W. & Buckley, E.E., ed. *Venomous Animals and their venoms*, v. 2, p. 345-403, 1971.
- ³ Amaral, C.F.; Da Silva, O.A.; Goody, P.; Miranda, D. Renal cortical necrosis following *Bothrops jararaca* and *B. jararacussu* snake bite. *Toxicon*, v. 23, p. 877-885, 1985.
- ⁴ Roodt, A.R.; Vidal, J.C.; Dolab, J.A.; Segre, L. Terapéutica en el envenenamiento por serpientes. Generalidades y tratamientos. *Revista de Medicina Veterinária*, v. 78, p. 220-230, 1997.
- ⁵ Gutierrez, J.M.; Chaves, F.; Bolanos, R.; Cerdas, L.; Rojas, E.; Arroyo, O.; Potilla, E. Neutralización de los efectos locales del veneno de *Bothrops asper* por um antiveneno polivalente. *Toxicon*, v. 19, p. 493-500, 1981.
- ⁶ Gutierrez, J.M.; Rojas, G.; Lomonte, B.; Genê, J.A.; Cerdas, L. Comparative study of the edema-forming activity of Costa Rica snake venoms and its neutralization by a polyvalent antivenom. *Com. Biochem. Physiol.*, v. 85C, p. 175-176, 1986.
- ⁷ Gutierrez, J.M.; Lomonte, B. Local tissue damage induced by *Bothrops* snake venoms. A Review. *Mem. Int. Butantan*, v. 51, p. 211-223, 1989.
- ⁸ Mors, W.B.; Nascimento, M.C.; Pereira, B.M.R.; Pereira, N.A. Plant natural products active against snake bite - the molecular approach. *Phytochemistry*, v. 55, p. 627-642, 2000.
- ⁹ Chihara, G. Antitumor and metastasis-inhibitory activities of lentinan as an immunomodulator: an overview. *Cancer Detect Prev. Suppl.* v. 1, p. 423-443, 1987.
- ¹⁰ Iwaide, I. Therapeutic effects of substances occurring in basetiomycetis mushroom: a modern perspective. *Rev. Immunology*, v. 1, p. 65-66, 1980.
- ¹¹ Kamiguti, A.S.; Hay, C.R.M.; Theakston, R.D.G.; Zuzel, M. Insights into the mechanism of haemorrhage caused by snake venom metalloproteinases. *Toxicon*, v. 34, p. 627-642, 1996.
- ¹² Thomazini, I.A.; Barraviera, B. Alterações hematológicas nos acidentes por animais peçonhentos. In: Barraviera B. (Coord.). *Venenos Animais: uma visão integrada*, Rio de Janeiro: Publicações Científicas. Cap. 14, p. 205-223, 1994.

- ¹³ Mizuno, T.; Hagiwara, T.; Nakamura, T.; Ito, H.; Shimura, K.; Sumiya, T.; Asakura, A. Antitumor activity and some properties of water-insoluble hetero-glycans from "Himematsutake," the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill. *Agricultural & Biological Chemistry*, v. 54, p. 2897-2905, 1990.

*Autor para correspondência:

Profa. Dra. Marília Martins Melo
 Laboratório de Toxicologia Veterinária
 Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias,
 Universidade Federal de Minas Gerais
 Av. Antônio Carlos, 6627 - Belo Horizonte (MG)
 E-mail: marilia@vet.ufmg.br