






# ***Agaricus blazei* Murrill não reduz a obesidade e a esteatose hepática, mas melhora a tolerância à glicose e reduz o colesterol hepático em camundongos obesos**

*Agaricus blazei* Murrill does not reduces obesity or hepatic steatosis but improves glucose tolerance and hepatic cholesterol in obese mice

Edson Júnior Rossi da SILVA<sup>1</sup>  Joao Pedro Giannotti ALVES<sup>1</sup>  Heloisa de Matos MAILLARD<sup>1</sup>   
Marina Kimiko KADOWAKI<sup>1</sup>  Maria Lucia BONFLEUR<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel-PR, Brasil

\*Autor Correspondente: [mlbonfleur@hotmail.com](mailto:mlbonfleur@hotmail.com)

## RESUMO

A obesidade está fortemente associada à Doença Hepática Esteatótica Associada à Disfunção Metabólica e a busca por novas abordagens terapêuticas é necessária. O cogumelo *Agaricus blazei* Murrill (ABM) possui compostos bioativos com potencial efeito metabólico, embora as evidências experimentais ainda sejam limitadas. Este estudo investigou os efeitos da suplementação com ABM sobre parâmetros metabólicos e hepáticos em camundongos obesos. Camundongos machos da linhagem C57BL/6 foram alimentados com dieta hiperlipídica (DH) durante oito semanas para indução da obesidade e, em seguida, alocados em três grupos: OB-CTL (controle, água), OB-ABM1 (ABM 10%) e OB-ABM2 (ABM 5%), tratados por gavagem diária durante 12 semanas, com manutenção da DH. Foram avaliados peso corporal, ingestão alimentar, adiposidade, glicemia, perfil lipídico plasmático e hepático, além da esteatose hepática. A suplementação com ABM não alterou o peso corporal, o consumo alimentar nem a deposição de gordura. Contudo, o grupo OB-ABM1 apresentou melhora na tolerância à glicose, evidenciada pela redução da área sob a curva no teste de tolerância à glicose. Não foram observadas alterações nos níveis plasmáticos de triglicerídeos e colesterol. No entanto, ambas as concentrações de ABM promoveram redução significativa do conteúdo de colesterol hepático, sem impacto sobre a esteatose macro ou microvesicular. Em conclusão, o ABM não preveniu a obesidade nem a esteatose hepática, mas exerceu efeitos benéficos modestos sobre a homeostase glicêmica e o metabolismo hepático de colesterol. Estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos de ação e o potencial terapêutico do ABM em modelos de obesidade estabelecida.

**Palavras-chave:** cogumelos; doença hepática gordurosa não alcoólica; obesidade; fígado gorduroso.

## ABSTRACT

Obesity is strongly associated with Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD), and there is a pressing need for new therapeutic strategies. The mushroom *Agaricus blazei* Murrill (ABM) contains bioactive compounds with potential metabolic effects, although experimental evidence remains limited. This study evaluated the effects of ABM supplementation on metabolic and hepatic parameters in obese mice. Male C57BL/6 mice were fed a high-fat diet (HFD) for eight weeks to induce obesity, and subsequently assigned to three groups: OB-CTL (control, water), OB-ABM1 (10% ABM), and OB-ABM2 (5% ABM), treated by daily gavage for 12 weeks while maintaining the HFD. Body weight, food intake, adiposity, blood glucose, plasma and hepatic lipid profiles, and liver steatosis were assessed. ABM supplementation did not affect body weight, food consumption, or fat accumulation. However, OB-ABM1 mice exhibited improved glucose tolerance, as evidenced by a reduced area under the curve in the glucose tolerance test. No changes were observed in plasma triglyceride and cholesterol levels. Interestingly, both ABM-treated groups showed a significant reduction in hepatic cholesterol content, without alterations in macro- or microvesicular steatosis. In conclusion, ABM did not prevent obesity or hepatic steatosis but exerted modest beneficial effects on glucose homeostasis and hepatic cholesterol metabolism. Further studies are warranted to clarify the mechanisms and therapeutic potential of ABM supplementation, particularly in models of established obesity.

**Keywords:** mushrooms; metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD); obesity; fatty liver.

Citar este artigo como:

SILVA, E. J. R. da; ALVES, J. P. G.; MAILLARD, H. de M.; KADOWAKI, M. K.; BONFLEUR, M. L. *Agaricus blazei* Murrill não reduz a obesidade e a esteatose hepática, mas melhora a tolerância à glicose e reduz o colesterol hepático em camundongos obesos. *Nutrivisa Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde*, Fortaleza, v. 12, n. 1, p. e15731, 2025. DOI: 10.52521/nutrivisa.v12i1.15731. Disponível em: <https://revistas.uece.br/index.php/nutrivisa/article/view/15731>.

## INTRODUÇÃO

A obesidade é uma condição multifatorial crônica com alta prevalência global e crescente incidência em países em desenvolvimento, como o Brasil. Trata-se de um fator de risco relevante para diversas comorbidades, incluindo diabetes mellitus tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares, dislipidemias, certos tipos de câncer e, notavelmente, a Doença Hepática Esteatótica Associada à Disfunção Metabólica (MASLD, do inglês Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease) (Hoffman *et al.*, 2018; Rhee, 2019).

A MASLD afeta aproximadamente 25% da população adulta mundial e representa a manifestação hepática da síndrome metabólica (Eslam *et al.*, 2020). Esta condição está fortemente associada à resistência à insulina, obesidade central, hipertrigliceridemia, redução do HDL-colesterol, hipertensão arterial e hiperglicemia (Sangro *et al.*, 2023). Sua progressão envolve uma sequência patológica que vai da esteatose simples à esteato-hepatite associada à disfunção metabólica (MASH, do inglês Metabolic Dysfunction-Associated Steatohepatitis), podendo evoluir para fibrose, cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (Cohen; Horton; Hobbs, 2011).

Os mecanismos fisiopatológicos centrais da MASLD incluem aumento do fluxo de ácidos graxos livres ao fígado, lipogênese exacerbada, dieta hiperlipídica e inflamação crônica de baixo grau (Milic; Lulic; Štimac, 2014). Atualmente, a redução do peso corporal, alcançada por meio de mudanças no estilo de vida, cirurgia bariátrica ou intervenções farmacológicas, representa o principal tratamento para a MASLD (Eslam *et al.*, 2020; Milic; Lulic; Štimac, 2014). No entanto, as opções medicamentosas disponíveis são limitadas e frequentemente associadas a efeitos adversos, destacando a necessidade de novas abordagens terapêuticas (George; Rajaram; Shanmugam, 2014; Kumar, 2019).

Compostos bioativos de origem natural, presentes em frutas, vegetais, especiarias, leguminosas e cogumelos, têm sido apontados

como promissores no manejo da obesidade e suas comorbidades (Shang *et al.*, 2020). Dentre esses, o *Agaricus blazei* Murrill (ABM), também conhecido como “cogumelo do sol”, tem sido utilizado tradicionalmente como alimento funcional e medicinal. Rico em proteínas, vitaminas e B-glucanas – polissacarídeos com reconhecida atividade biológica – o ABM tem demonstrado efeitos antidiabéticos, antioxidantes, imunomodulatórios e hepatoprotetores em modelos experimentais (Ohno *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2013; Da Silva *et al.*, 2013).

Apesar do amplo uso popular e de algumas evidências experimentais, os efeitos do ABM, especialmente de sua forma comercial, sobre a obesidade e a MASLD ainda são pouco explorados. Estudos prévios demonstraram que a suplementação com ABM pode atenuar o acúmulo de gordura corporal, melhorar o perfil lipídico e modular a secreção de hormônios como insulina, leptina e adiponectina em modelos animais submetidos a dieta hiperlipídica (Vincent *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2020). No entanto, a literatura carece de investigações mais robustas que avaliem a eficácia do extrato comercial do ABM nesses contextos.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação com extrato comercial de *Agaricus blazei* Murrill sobre a obesidade e MASLD em camundongos machos obesos induzidos por dieta hiperlipídica.

## MATERIAL E MÉTODOS

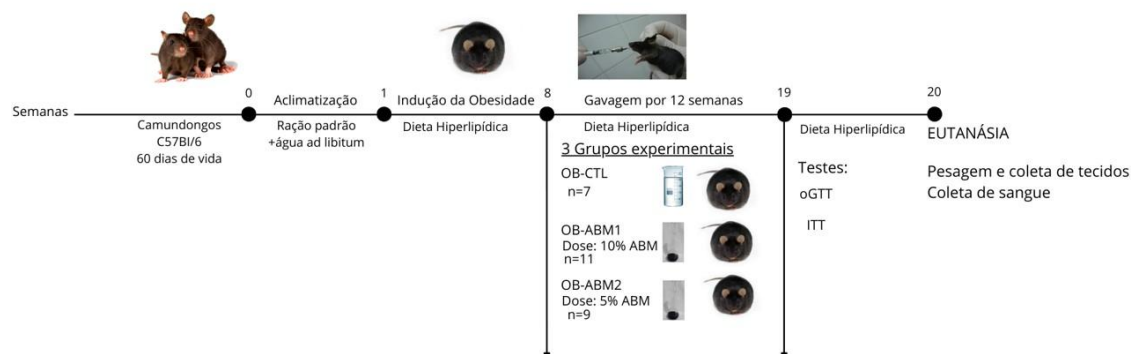
### Animais e aspectos éticos

Foram utilizados 27 camundongos machos da linhagem C57Bl/6 com 60 dias de vida oriundos do biotério central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná e mantidos no biotério setorial do Laboratório de Fisiologia Endócrina e Metabolismo. Os animais foram acomodados em condições de temperatura ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e luminosidade (12 horas claro/escuro) controladas, e receberam ração padrão (Supralab, Brasil) e água *ad libitum* durante 7 dias para aclimação. Todos

os experimentos seguiram as normas estabelecidas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (CEUA) e o estudo foi aprovado sob número CEUA nº 23-24.

médio de 70kg, a dose definida para ABM1 foi de 211,39mg/kg, e, para ABM2, de 105,70 mg/kg. O peso médio dos animais foi considerado como 40g, resultando em uma dose diária de 8,46mg para ABM1, e 4,23mg para ABM2, cor

**Figura 1** – Delineamento Experimental.



Legenda: ABM: *Agaricus blazei* Murrill; OB-CTL: Grupo obesidade Controle; OB-ABM1: Grupo Obesidade ABM 10%; OB-ABM2: Grupo Obesidade ABM 5%; oGTT: Teste Oral de Tolerância à Glicose; ITT: Teste de Tolerância à Insulina

#### Indução da obesidade e tratamento com ABM

Após o período de aclimação, todos os animais receberam dieta hiperlipídica (DH) para indução da obesidade a qual foi preparada de acordo com Rosolen *et al.*, 2024.

Ao completarem 8 semanas de consumo de DH, iniciou-se o período de suplementação com o ABM e os animais foram separados em três grupos experimentais: 1) Grupo Obeso Controle (OB-CTL, n=7); 2) Grupo Obeso ABM extrato 10% (OB-ABM1, n=11) e 3) Grupo Obeso ABM extrato 5% (OB-ABM2, n=9, Fig. 1). A suplementação com ABM foi realizada por gavagem uma vez ao dia durante 12 semanas. O micélio foi a parte utilizada para a fabricação do extrato comercial e sua composição pode ser acessada através do link, <https://florien.com.br/wp-content/uploads/2016/07/COGUMELO.pdf>. A adaptação da dose foi realizada utilizando-se a fórmula Dose Humana Equivalente (mg/kg) = Dose animal (mg/kg) × (Km Animal)/(Km Humano), em que Km é um índice estabelecido para pesquisas conforme o modelo animal (Nair & Jacob, 2016). Considerando uso comercial de 1200 mg por dia, para um adulto

respondendo 10% e 5% de extrato ABM líquido preparado, respectivamente. O grupo controle recebeu água filtrada, e todos os animais receberam volume de gavagem de 0,1mL. Durante a suplementação com ABM a DH foi mantida para todos os grupos experimentais.

#### Avaliação do consumo alimentar, peso corporal e eficiência alimentar

Os animais foram pesados semanalmente para acompanhamento da evolução do ganho de peso (g). O consumo alimentar foi obtido em intervalos semanais, sendo calculado pela subtração da ração ofertada (g) menos a sobra (g) dividido pelo número de animais por caixa. A eficiência alimentar foi calculada como razão do ganho de peso final (g) pelo consumo total (g).

#### Teste de Tolerância Oral À Glicose (oGTT) e Teste de Tolerância à Insulina (ITT)

Uma semana antes da eutanásia dos camundongos, foi realizado oGTT. Os animais ficaram em jejum por um período de 12 horas. O sangue foi coletado através da cauda para obtenção

da glicemia (tempo 0), utilizando glicosímetro (G-Tech Free, G-Tech, Brasil). A seguir, os animais receberam solução de glicose (1,5 g/Kg) via oral por gavagem. A glicemia foi verificada nos tempos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos. Passados dois dias do oGTT, os camundongos foram submetidos ao (ITT). Para isso, os animais permaneceram em jejum por 2 horas. A glicemia basal (tempo 0) foi verificada com o glicosímetro e, em seguida, foi administrado insulina regular (0,75 UI/Kg), via intraperitoneal. A glicemia foi novamente avaliada nos tempos 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 minutos. A constante de decaimento da glicose (KITT) foi calculada com a fórmula:  $KITT = 0.693/t_{1/2}$ , sendo que  $t_1$  representa o valor da glicemia no tempo 6 minutos após a administração de insulina no ITT.

Eutanásia, dosagens plasmáticas e estoques de gordura

Ao fim do período de suplementação e após 8 horas de jejum, os animais foram pesados. Em seguida, os camundongos foram anestesiados com cloridrato de xilazina (AnasedanR, Vetbrands, Brasil) e cloridrato de ketamina (DopalenR, Vetbrands, Brasil) na concentração 9 mg/kg e 90 mg/kg, respectivamente. Constatada a sedação, o comprimento naso-anal foi obtido para cálculo do Índice de Lee (Bernardis, 1970) foi realizada a decapitação e subsequente coleta de sangue em tubos com EDTA.K2. O sangue foi centrifugado a 13800g, a 4°C por 10 minutos para obtenção do plasma e armazenado em freezer -20°C para posterior dosagem dos parâmetros plasmáticos. O plasma foi utilizado para dosagem da concentração de triglicerídeos (TG) e colesterol total (COL) através de kits colorimétricos comerciais doados pela empresa Quibasa-Bioclin, conforme instruções do fabricante. A glicemia foi avaliada com auxílio de glicosímetro e a insulínia por Kit Elisa (Millipore Mouse Insulin ELISA EZHI-13K). Após coleta de sangue, o tecido adiposo branco perigonadal e retroperitoneal foram retirados e pesados. A carcaça dos animais foi pesada e armazenada em freezer -20°C para posterior extração de gordura.

Extração da gordura da carcaça

A extração de gordura da carcaça foi realizada conforme descrito por Salerno e colaboradores (2007). As carcaças dos camundongos foram pesadas (peso úmido) e armazenadas em freezer -20°C. Posteriormente, as carcaças foram desidratadas em estufa à 65°C durante 72 h e pesadas (peso seco). O conteúdo total de água foi calculado através do peso úmido menos o peso seco. Após a desidratação, a gordura total da carcaça (tecido adiposo subcutâneo) foi extraída com éter de petróleo (LabSynth, SP, Brasil) usando um extrator de Soxhlet. A porcentagem da gordura total da carcaça foi obtida através do cálculo % de gordura total da carcaça =  $((\text{Peso Recipiente} + \text{Gordura}) - \text{Peso do Recipiente}) / (\text{Peso Seco}) \times 100$ .

Extração lipídica do fígado

Uma parte do fígado de cada animal foi removida e estocada a -20 °C, para posterior extração lipídica seguindo o método descrito por Folch e colaboradores (1957). O tecido foi descongelado e macerado com um homogeneizador mecânico Marconi modelo MA 102/Mini. Em seguida, adicionado 20x por peso do tecido de solução clorofórmio/metanol (solução de Folch) na proporção de 2:1. Os tubos foram deixados em repouso overnight à temperatura ambiente para extração dos lipídeos. No dia seguinte, o extrato foi filtrado em papel filtro para frascos previamente pesados. Os frascos permaneceram abertos em capela para evaporação da solução de Folch e precipitação dos lipídeos totais. Após essa etapa adicionamos 250 µL de álcool isopropílico e uma alíquota foi utilizada para determinação do conteúdo de TG e COL hepático, utilizando kits comerciais como descrito acima.

Processamento histológico do fígado

Um fragmento do fígado foi retirado de cada animal e fixado em formol de Carson 10% por 48 horas em temperatura ambiente, desidratado em concentrações ascendentes de álcool, Xilol e aplicação de parafina. Foram utilizadas amostras de 6 animais por grupo. De cada animal, 9

Cortes semi-seriados de 5µm foram confeccionados para coloração em hematoxilina e eosina (HE). No total, 32 imagens por animal foram obtidas com fotomicroscópio Olympus BX 60 e o programa Olympus DP Controller para análise, contemplando campos aleatórios dentro das 9 seções de tecidos disponíveis. A progressão da esteatose hepática foi analisada utilizando o programa ImageJ 1.54g seguindo o protocolo de Liang e colaboradores (2014), usando lâminas coradas com HE. A esteatose hepática foi mensurada em níveis de 0 a 3, equivalendo respectivamente a <5%, 5-33%, 34-66% e >66% do número de hepatócitos e propositalmente foram ignoradas áreas de vasos sanguíneos para a uniformização (Liang *et al.*, 2014).

#### Análise estatística

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. Para avaliação estatística foi aplicado o teste de análise de variância ANOVA, seguida do pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ . As análises foram realizadas no programa estatístico GraphPad Prism versão 10.2.2 para Windows (GraphPad Software®).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Efeitos da suplementação com ABM sobre ganho de peso e consumo alimentar

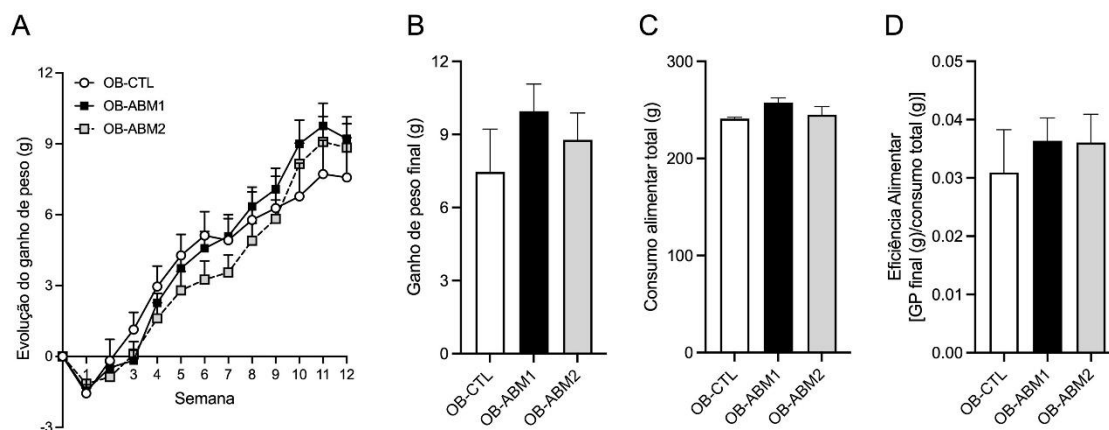
Na Figura 2A observa-se que nas primeiras semanas após o início do tratamento (semanas 1 e 2) os animais de todos os grupos apresentaram redução no ganho de peso. Todavia, após a terceira semana nota-se aumento do ganho de peso em todos os animais até o final do período experimental. Esse fato pode estar associado a um período de adaptação e estresse ao procedimento de gavagem. A suplementação com ABM nas duas concentrações utilizadas não foi eficaz em reduzir o ganho de peso quando comparado aos animais OB-CTL (Fig.: 2B). Além disso, o consumo alimentar total (Fig.: 2C) e a eficiência alimentar (Fig.: 2D), não foram diferentes entre

os grupos estudados. Tais resultados foram similares ao estudo de Gonçalves e colaboradores (2012) que não observaram diferenças no consumo e ganho de peso de camundongos knockout para ApoE suplementados com 5% do corpo de frutificação seco e em pó do cogumelo ABM, durante 6 semanas.

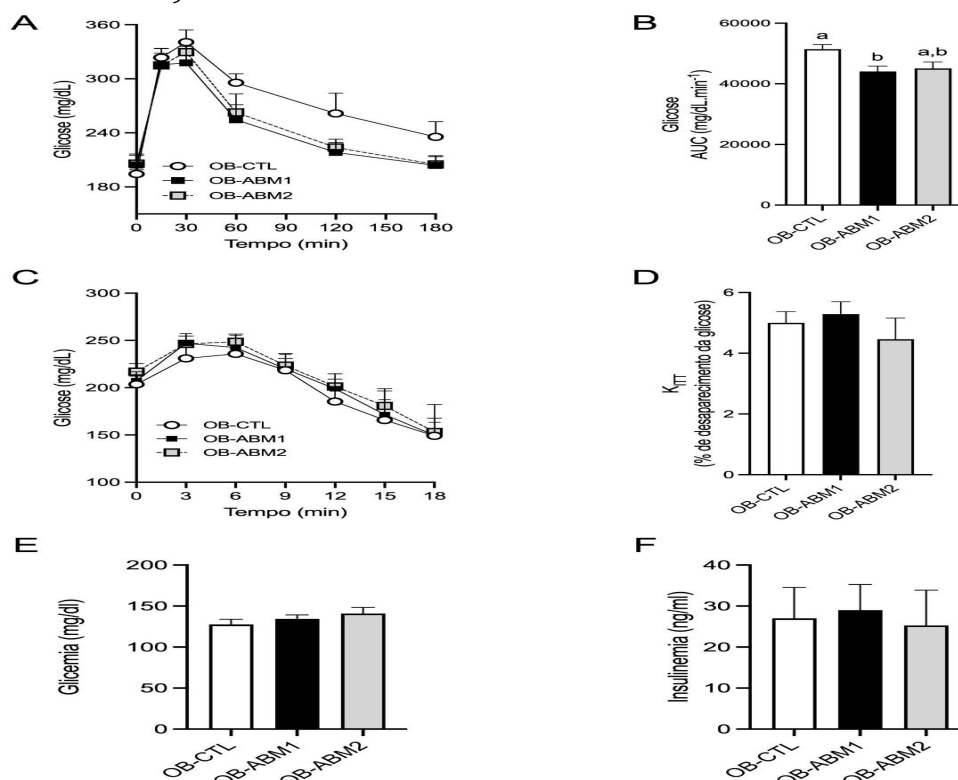
#### Efeitos da suplementação com ABM sobre o teste de tolerância à glicose e à insulina

Na sequência avaliou-se os efeitos da suplementação com ABM na tolerância à glicose e à insulina. Na Figura 3A observa-se que a glicemia de jejum no teste de tolerância foi similar entre os grupos. Após a administração de glicose, o pico de glicemia foi observado no tempo 30 min em todos os animais, seguido de uma redução nos tempos 60, 120 e 180 min. Apesar de não ter diferenças estatísticas entre os grupos na curva glicêmica, ao avaliar-se a Área Sob a Curva (AUC) (Fig.: 3B) do oGTT, observou-se que o grupo OB-ABM1 apresentou diferença estatística quando comparado ao grupo OB-CTL ( $P = 0,0318$ ), sendo similar ao grupo OB-ABM2 ( $P = 0,9199$ ). Na avaliação da tolerância à insulina, não se observou efeitos da suplementação com ABM no teste de tolerância à glicose (Fig.: 3C), bem como, na constante de desaparecimento da glicose (Fig.: 3D). A glicemia e insulinemia de jejum (Fig.: 3E e 3F) também não foram diferentes entre os grupos estudados. Um estudo demonstrou que a suplementação com 25 mg/Kg de PC de *Agaricus Bio Super Liquid* (AGSL) concomitante com o consumo de dieta hiperlipídica (DH) de ratos pelo período de 20 semanas teve efeito protetivo contra os efeitos deletérios da dieta sobre a homeostase glicêmica. O extrato de ABM preveniu a tolerância à glicose e melhorou a sensibilidade à insulina bem como, reduziu a concentração plasmática de insulina e leptina e aumentou a concentração de adiponectina (Vincent *et al.*, 2013). Em um estudo utilizando o modelo animal de DM2 induzido por estreptozotocina, observou-se que a suplementação com o extrato de ABM na dose de 1g/Kg/dia pelo período de 8 semanas promoveu redução do estresse oxidativo e na produção

**Figura 2** – Média  $\pm$  EPM da (A) Evolução do ganho de peso (B) Ganho de peso final; (C) Consumo alimentar total e (D) Eficiência Alimentar em camundongos machos OB-CTL (n=7), OB-ABM1 (n=11) e OB-ABM2 (n=9).  $P < 0,05$ . One-way ANOVA seguido do pós-teste de Tukey.



**Figura 3** – Média  $\pm$  EPM do (A) Teste de tolerância oral à glicose (oGTT); (B) Área abai da curva (AUC) do oGTT; (C) Teste de tolerância à insulina (ITT); (D) Constante desaparecimento da Glicose ( $K_{IT}$ ); (E) Glicemia em jejum e (F) Insulinemia em jejum camundongos machos OB-CTL (n=7), OB-ABM1 (n=11) e OB-ABM2 (n=9). Ausência diferença estatística entre grupos,  $P < 0,05$ . As letras diferentes sobre as barras refere se às diferenças estatísticas entre os grupos,  $P < 0,05$ . One-way ANOVA seguido do p teste de Tukey.



de TNF-alfa nas ilhotas, diminuição da glicemia e aumento da massa de células Beta (Niwa *et al.*, 2011). Outro estudo utilizando ratos SD com DM1 induzida por estreptozotocina, revelou que frações semipurificadas da cultura de ABM submersa foram capazes de reduzir tanto a glicemia quanto a insulinemia. Nesse sentido, destacou-se a fração obtida por acetato de etila, que, na dose de 400mg/kg de peso corporal (PC) e administrada por 14 dias causou aumentos levemente inferiores aos da metformina na insulinemia e glicemia após jejum de 16h (Oh *et al.*, 2010). Em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, a suplementação com o extrato de ABM na dose de 1500 mg por dia durante 12 semanas em pacientes diabéticos tipo 2 melhorou a resistência à insulina e aumentou a concentração plasmática de adiponectina (Hsu *et al.* 2007). É importante destacar que o presente estudo apresenta diferenças metodológicas com os estudos citados. Nosso estudo é o primeiro que mostra os efeitos da suplementação com ABM comercial após a instalação da obesidade induzida por DH, e de acordo com nossos resultados, no modelo estudado, período de suplementação e concentrações utilizadas, o ABM não apresentou efeito sobre os efeitos deletérios da DH na homeostase glicêmica.

#### Efeitos da suplementação com ABM sobre peso final e acúmulo de gordura corporal

Dando seguimento, avaliou-se os efeitos do ABM sobre a obesidade. O peso corporal final e o peso dos estoques de gordura retroperitoneal e perigonadal foram similares entre os grupos estudados (Fig.: 4A e 4B, respectivamente). O índice de Lee também foi similar entre os grupos (OB-CTL 358,50 ± 6,07; OB-ABM1 363,3 ± 7,26 e OB-ABM2 370,0 ± 7,50). A suplementação com ABM não teve efeito no peso da carcaça seca e na composição corporal (Fig.: 4C e 4D). Nossos resultados diferem de estudos da literatura. Ratos espontaneamente hipertensos que receberam ração padrão contendo 10% de pó de *Agaricus brasiliensis* KA21 (cepa comercial de *Agaricus blazei*) por cinco semanas e ratos diabéticos induzidos

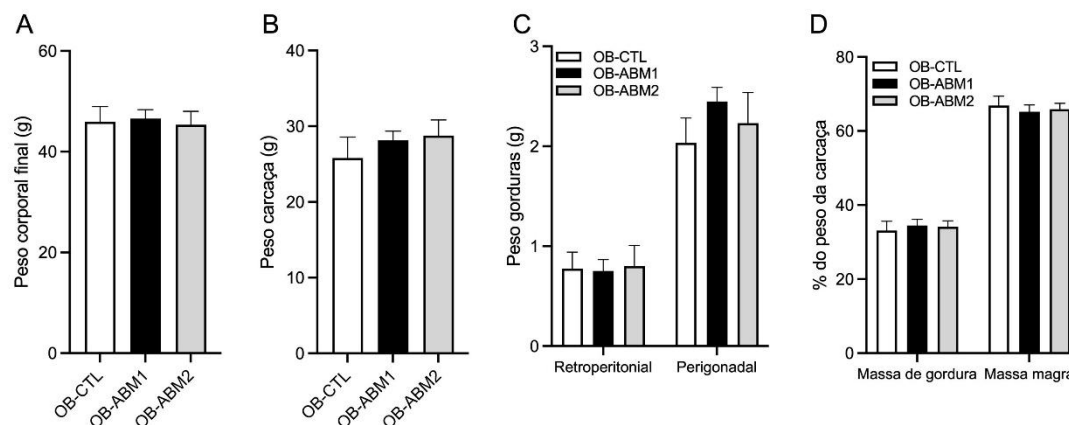
por estreptozotocina e suplementados durante 8 semanas com 1g/kg/dia com ABM preparado de corpos frutíferos secos e em pó, apresentaram redução do peso corporal final (Tsubone *et al.*, 2013; Niwa; Tajiri; Higashino, 2011). Além disso, a suplementação com 25 mg/Kg de PC de AGSL concomitantemente com o consumo de DH de ratos pelo período de 20 semanas teve efeito protetivo contra o desenvolvimento da obesidade. O extrato de AGSL preveniu o aumento da massa de gordura e os autores atribuíram esse efeito protetivo contra obesidade ao aumento do gasto calórico destes animais, tendo em vista que a atividade locomotora dos ratos que receberam a DH e a suplementação com AGSL foi maior no período noturno em relação aos outros grupos (Vincent *et al.*, 2013). Novamente destacamos que estes resultados diferentes dos nossos podem ser decorrentes do modelo, duração da suplementação e o tipo de extrato utilizado.

#### Efeitos da suplementação do ABM sobre perfil lipídico e esteatose hepática

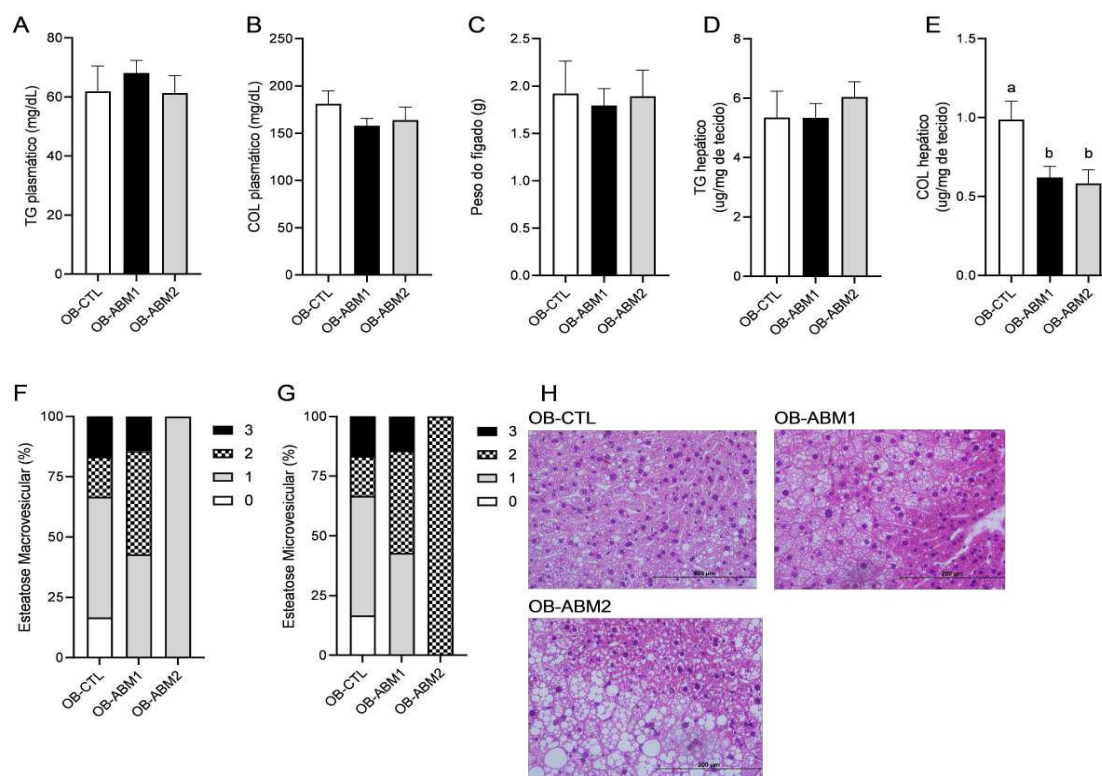
Sabe-se que uma dieta rica em gordura contribui para um quadro de dislipidemia em camundongos e que apresentarão COL total e TG plasmáticos aumentados (Li *et al.*, 2020). Sendo assim, uma intervenção benéfica deverá promover queda nesses parâmetros frente a um grupo sem a intervenção. Assim, o próximo passo foi avaliar os efeitos da suplementação com ABM sobre os lipídios plasmáticos e esteatose hepática. A concentração plasmática de TG e COL total foram similares entre os grupos OB-CTL, OB-ABM1 e OB-ABM2 (Fig.: 5A e 5B, respectivamente). O peso do fígado e o conteúdo de TG hepático não foi diferente entre os grupos estudados (Fig.: 5C e 5D, respectivamente). Porém, observou-se que os grupos OB-ABM1 e OB-ABM2 apresentaram redução do conteúdo de COL hepático em relação ao grupo OB-CTL (Fig.: 5E, P = 0,0291 e P = 0,0180, respectivamente).

Nosso trabalho também realizou análise de esteatose hepática, peça-chave da característica fisiopatológica da MASLD. A dieta hiperlipídica proporciona maior aporte de ácidos graxos e

**Figura 4** – Média  $\pm$  EPM do (A) Peso corporal final; (B) Peso da carcaça; (C) Peso das gorduras – Retroperitoneal e Perigonadal e (D) Porcentagem do peso da carcaça – Massa de gordura e Massa magra em camundongos machos OB-CTL (n=5), OB-ABM1 (n=11) e OB-ABM2 (n=7).  $P < 0,05$ . One-way ANOVA seguido do pós-teste de Tukey.



**Figura 5** – Média  $\pm$  EPM do (A) Triglicerídeos Plasmático (mg/dL); (B) Colesterol Total Plasmáticos (mg/dL); (C) Peso do Fígado (g), (D) Triglicerídeos Hepático ( $\mu$ g/mg de tecido), (E) Colesterol Hepático ( $\mu$ g/mg de tecido), (F) Esteatose Hepática Macrovesicular (%), (G) Esteatose Hepática Microvesicular (%) e (H) Lâminas histológicas representativas do fígado em camundongos machos OB-CTL (n=6), OB-ABM1 (n=7) e OB-ABM2 (n=5). As letras diferentes sobre as barras referem-se às diferenças estatísticas entre os grupos,  $P < 0,05$ . One-way ANOVA seguido do pós-teste de Tukey.



que se acumularia no interior dos hepatócitos e geraria uma série de lesões devido a inflamação e morte celular (Semova; Biddinger, 2021). A esteatose macrovesicular foi quantificada e observou-se que do grupo OB-CTL 16,67% dos animais apresentaram grau 0, 2 e 3 e 50% grau 1 de esteatose; do grupo OB-ABM1 42,86% tiveram esteatose grau 1 e 2 e 14,28% grau 3; e por último, 100% dos animais do grupo OB-ABM2 apresentaram esteatose grau 1 (Fig.: 5F). Também se avaliou a esteatose microvesicular e observou-se que o grupo OB-CTL e OB-ABM1 apresentaram as mesmas proporções dos graus de esteatose macrovesicular encontrados, porém no grupo OB-ABM-2, 100% dos animais apresentaram esteatose microvesicular grau 2 (Fig.: 5G). A figura 5H apresenta as imagens representativas da histologia dos grupos. A coloração HE permitiu a visualização dos hepatócitos, células predominantes no fígado, como células com núcleos redondos ou ovais corados em tons de roxo/azul pela hematoxilina e citoplasma corado em rosa pela eosina, organizados em cordões ou lóbulos e separados por espaços vasculares chamados sinusoides. Observa-se pequenas gotículas de lipídios dispersas no citoplasma dos hepatócitos que conferem um aspecto pálido, espumoso ou vacuolado à célula, tal aspecto advém de espaços vazios de cor clara devido a dissolução lipídica durante o processamento histológico. Na presença de microvesículas, é possível observar gotículas menores que o núcleo difusamente e ausência de deslocamento do núcleo do hepatócito para a periferia. Gotículas maiores de lipídios deslocam o núcleo para a periferia da célula, conferindo a característica de macrovesículas. A visualização das lâminas representativas permite constatar maior predominância de gotículas maiores no grupo OB-ABM2 caracterizando maior quantidade de células hepáticas macrovesiculares.

Segundo crenças populares, o consumo de ABM auxilia na redução do COL, (Firenzuoli *et al.*, 2008) e de acordo com literatura científica, extratos ou frações específicas do ABM possuem efeito de proteção hepática (Wang *et al.*, 2013).

Segundo Kim *et al.* (2005), o extrato aquoso a quente de ABM em ratos Sprague-Dawley (SD) com diabetes tipo 1 (DM1) induzida por estreptozotocina, durante 6 semanas na dose de 20g/kg aumentou a concentração sérica de HDL- COL e diminuiu os TG e o COL total séricos, com consequente redução da razão TG/HDL. Em outro estudo, ratos SD suplementados com 640 mg/Kg de PC do extrato de ABM intragastricamente pelo período de 8 semanas e alimentados com DH, apresentaram melhora no quadro dislipidêmico com redução da concentração sérica de TG, COL, LDL-COL e aumento da HDL-COL. Estes efeitos foram correlacionados a mudanças causadas pela suplementação com ABM sobre a microflora intestinal (Li *et al.*, 2020). Os autores também observaram aumento da expressão da proteína CYP7A1, enzima-chave no metabolismo do colesterol, e redução do SREBP-1c, associado a deposição de lipídios no fígado, no tecido hepático do grupo ABP, indicando que o ABM poderia promover maior efeito sobre o colesterol. Nesse contexto, apesar de não termos encontrado redução da esteatose hepática, observamos redução do conteúdo total de COL hepático nas duas concentrações de ABM utilizadas, sugerindo um efeito benéfico da suplementação após indução da obesidade, porém mais experimentos são necessários para observarmos os efeitos moleculares envolvidos.

Enfatizamos que no presente estudo utilizou-se um extrato comercial seco de micélio, com dose calculada com base na interconversão entre camundongo e humanos, diferindo da maioria dos estudos que empregaram corpo de frutificação ou frações purificadas de compostos bioativos, como as B-glucanas, e doses maiores. Essa abordagem foi intencional pois visava-se avaliar os efeitos do produto tal como é a realidade da comercialização para o consumo humano, o que aumenta a relevância deste estudo. Embora se trate de uma limitação experimental ao mesmo tempo.

## CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que a suplementação com extrato comercial de ABM nas duas concentrações e tempo utilizados, após a indução da obesidade, ou seja, como tratamento para redução de peso e das comorbidades associadas, não possui efeito na redução do acúmulo de gordura e na melhora da esteatose hepática. Nossos resultados demonstram que o ABM promoveu modulação da glicemia, fato evidenciado pela diminuição da AUC do teste de tolerância à glicose (oGTT), porém sem alterar sensibilidade à insulina e insulinemia. Além disso, foi eficaz na redução do conteúdo de COL hepático. Assim conclui-se que o ABM possui leve atividade biológica, mas seu potencial como suplemento para obesidade e para doença hepática esteatótica associada a disfunção metabólica requer investigações mais aprofundadas. Seus efeitos dependem da parte do fungo utilizado, do método de processamento, da presença de compostos purificados e da dose. Estudos futuros devem explorar os mecanismos subjacentes aos efeitos paradoxais observados e avaliar a padronização de extratos comercial a fim de garantir eficácia e segurança em humanos.

## REFERÊNCIAS

- ABDELMEGEED, M. A.; YOO, S.-H.; HENDERSON, L. E.; GONZALEZ, F. J.; WOODCROFT, K. J.; SONG, B.-J. PPAR Expression Protects Male Mice from High Fat-Induced Nonalcoholic Fatty Liver. *The Journal of Nutrition*, v. 141, n. 4, p. 603-610, 2011. doi: 10.3945/jn.110.135210.
- BERNARDIS, L. L. Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's "nutritive ratio" in rats with hypothalamic obesity. *Experientia*, v. 26, n. 7, p. 789-90, 1970. doi: 10.1007/BF02232553.
- COHEN, J. C.; HORTON, J. D.; HOBBS, H. H. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science*, v. 332, n. 6037, p. 1519-23, 2011. doi: 10.1126/science.1204265.
- DA SILVA, A. F.; SARTORI, D.; MACEDO, F. C. Jr.; RIBEIRO, L. R.; FUNGARO, M. H.; MANTOVANI, M. S. Effects of B-glucan extracted from *Agaricus blazei* on the expression of ERCC5, CASP9, and CYP1A1 genes and metabolic profile in HepG2 cells. *Human and Experimental Toxicology*, v. 32, n. 6, p. 647-654, 2013. doi: 10.1177/0960327112468173.
- ESLAM, M.; NEWSOME, P. N.; SARIN, S. K.; ANSTEE, Q. M.; TARGHER, G.; ROMERO-GOMEZ, M.; ZELBER-SAGI, S.; WONG, V. W.-S.; DUFOUR, J.-F.; SCHATTENBERG, J. M.; KAWAGUCHI, T.; ARRESE, M.; VALENTI, L.; SHIHA, G.; TIRIBELLI, C.; YKI-JÄRVINEN, H.; FAN, J.-G.; GRONBAEK, H.; YILMAZ, Y.; CORTEZ-PINTO, H.; OLIVEIRA, C. P.; BEDOSSA, P.; ADAMS, L. A.; ZHENG, M.-H.; FOUAD, Y.; CHAN, W.-K.; MENDEZ-SANCHEZ, N.; AHN, S. H.; CASTERA, L.; BUGIANESI, E.; RATZIU, V.; GEORGE, J. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *Journal of Hepatology*, v. 73, n. 1, p. 202-209, 2020. doi: 10.1016/j.jhep.2020.03.039.
- FIRENZUOLI, F.; GORI, L.; DI SIMONE, L.; MORSUILO, M. Internet information about herbal products and dietary supplements. *Recenti progressi in medicina*, v. 97, p. 189-92, 2006.
- FIRENZUOLI, F.; GORI, L.; LOMBARDO, G. The Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murrill: Review of Literature and Pharmacotoxicological Problems. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 5, n. 1, p. 3-15, 2008. doi: 10.1093/ecam/nem007.
- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.
- GEORGE, M.; RAJARAM, M.; SHANMUGAM, E. New and Emerging Drug Molecules Against Obesity. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, v. 19, n. 1, p. 65-76, 2014. doi: 10.1177/1074248413508623.
- GONÇALVES, J. L.; ROMA, E. H.; GOMES-SANTOS, A. C.; POLETTO, E.; DE CASTRO, T. P.; MANTOVANI, L. R.; SANTOS, A. S.; DE OLIVEIRA, H. C.; TIRAPELLI, C. R.; GRASSI-KASSISSE, D. M.; MANTOVANI, M. S.; BONFLEUR, M. L. Pro-inflammatory effects of the mushroom *Agaricus blazei* and its consequences on atherosclerosis development. *European Journal of Nutrition*, v. 51, p. 927-937, 2012. doi: 10.1007/s00394-011-0270-8.

- HETLAND, G.; JOHNSON, E.; LYBERG, T.; BERNARDSHAW, S.; TRYGGESTAD, A. M. A.; GRINDE, B. Effects of the Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murill on Immunity, Infection and Cancer. *Scandinavian Journal of Immunology*, v. 68, p. 363-370, 2008. doi: 10.1111/j.1365-3083.2008.02157.x.
- HOFFMAN, F.; BORETTO, E.; VITALE, S.; GONZALEZ, V.; VIDAL, G.; PARDO, M. F.; FLORES, M. F.; GARCIA, F.; BAGNIS, G.; QUEIROZ, O. C. M.; RABAGLINO, M. B. Maternal nutritional restriction during late gestation impairs development of the reproductive organs in both male and female lambs. *Theriogenology*, v. 108, p. 331-338, 2018. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.12.016.
- HSU, C.H.; LIAO, Y.L.; LIN, S.C.; HWANG, K.C.; & CHOU, P. (2007). The mushroom *Agaricus Blazei* Murill in combination with metformin and gliclazide improves insulin resistance in type 2 diabetes: a randomized, double-blinded, and placebo-controlled clinical trial. *Journal of alternative and complementary medicine* v. 13(1), p. 97-102, 2007. doi: 10.1089/acm.2006.6054.
- HUANG, K.; EL-SEEDI, H. R.; XU, B. Critical review on chemical compositions and health-promoting effects of mushroom *Agaricus blazei* Murill. *Current Research in Food Science*, v. 5, p. 2190-2203, 2022. doi: 10.1016/j.crfs.2022.10.004.
- KUMAR, M. S. Peptides and Peptidomimetics as Potential Antiobesity Agents: Overview of Current Status. *Frontiers in Nutrition*, v. 6, e11, 2019. doi: 10.3389/fnut.2019.00011.
- LI, Y.; ZHANG, M.; ZHANG, J.; ZHAO, H.; TANG, M.; JIA, F.; WANG, Q.; WANG, Q.; CAO, X.; CHEN, J.; RUAN, H.; LI, H. Effects of *Agaricus blazei* Murrill polysaccharides on hyperlipidemic rats by regulation of intestinal microflora. *Food Science & Nutrition*, v. 8, n. 6, p. 2758-2772, 2020. doi: 10.1002/fsn3.1568.
- LIANG, W.; MENKE, A. L.; DRIESSEN, A.; KOEK, G. H.; LINDEMAN, J. H.; STOOP, R.; HAVEKES, L. M.; KLEEMANN, R.; VAN DEN HOEK, A. M. Establishment of a general NAFLD scoring system for rodent models and comparison to human liver pathology. *PLOS ONE*, v. 9, n. 12, e115922, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0115922.
- MILIĆ, S.; LULIĆ, D.; ŠTIMAC, D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: Biochemical, metabolic and clinical presentations. *World Journal of Gastroenterology*, v. 20, n. 28, p. 9330-9337, 2014. doi: 10.3748/wjg.v20.i28.9330.
- NAIR, A. B.; JACOB, S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, v. 7, n. 2, p. 27-31, 2016. doi: 10.4103/0976-0105.177703.
- NIWA, A.; TAJIRI, T.; HIGASHINO, H. *Ipomoea batatas* and *Agaricus blazei* ameliorate diabetic disorders with therapeutic antioxidant potential in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, v. 48, n. 3, p. 194-202, 2011. doi: 10.3164/jcbn.10-78.
- OH, T.W.; KIM, Y.A.; JANG, W.J.; BYEON, J.I.; RYU, C.H.; KIM, J.O.; & HA, Y.L. Semipurified Fractions from the Submerged-Culture Broth of *Agaricus blazei* Murill Reduce Blood Glucose Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* v. 58, p. 4113-4119. 2010. doi: 10.1021/jf9036672
- OHNO, NAOHITO; FURUKAWA, MAI; MIURA, NORIKO N.; ADACHI, YOSHIYUKI; MOTOI, MASURO; YADOMAE, TOSHIRO. Antitumor B-Glucan from the Cultured Fruit Body of *Agaricus blazei*. *Biol Pharm Bull*, v. 24, n. 7, p. 820-828, 2001. doi: 10.1248/bpb.24.820
- REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *The Journal of Nutrition*, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993. doi: 10.1093/jn/123.11.1939.
- REEVES, P. G.; ROSSOW, K. L.; LINDLAUF, J. Development and testing of the AIN-93 purified diets for rodents: results on growth, kidney calcification and bone mineralization in rats and mice. *The Journal of Nutrition*, v. 123, n. 11, p. 1923-1931, 1993. doi: 10.1093/jn/123.11.1923.
- RHEE, E. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Diabetes: An Epidemiological Perspective. *Endocrinology and metabolismo*, v. 34, n. 3, p. 226-233, 2019. doi: 10.3803/EnM.2019.34.3.226.

SALERNO, A. G.; SILVA, T. R.; AMARAL, M. E.; ALBERICI, L. C.; BONFLEUR, M. L.; PATRÍCIO, P. R.; FRANCESCONI, E. P.; GRASSI-KASSISSE, D. M.; VERCESI, A. E.; BOSCHERO, A. C.; OLIVEIRA, H. C. Overexpression of apolipoprotein CIII increases and CETP reverses diet-induced obesity in transgenic mice. *International Journal of Obesity*, v. 31, n. 10, p. 1586–1595, 2007. doi: 10.1038/sj.ijo.0803648.

SANGRO, P.; DE LA TORRE ALÁEZ, M.; SANGRO, B.; D'AVOLA, D. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD): an update of the recent advances in pharmacological treatment. *Journal of Physiology and Biochemistry*, v. 80, e116, 2024. doi: 10.1007/s13105-023-00954-4.

SEMOVA, I.; BIDDINGER, S. B. Triglycerides in NAFLD: guilty until proven innocent. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 42, n. 3, p. 183–190, 2021. doi: 10.1016/j.tips.2020.12.001.

SHANG, A.; GAN, R.-Y.; XU, X.-Y.; MAO, Q.-Q.; ZHANG, P.-Z.; LI, H.-B. Effects and mechanisms of edible and medicinal plants on obesity: an updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 61, n. 1, p. 1-17, 2020. doi: 10.1080/10408398.2020.1769548.

TSUBONE, H.; MAKIMURA, Y.; HANAFUSA, M.; YAMAMOTO, Y.; TSURU, Y.; MOTOI, M.; AMANO, S. *Agaricus brasiliensis* KA21 improves circulatory functions in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Medicinal Food*, v. 17, n. 3, p. 295-301, 2014. doi: 10.1089/jmf.2013.2934.

VINCENT, M.; BANDELIER, S.; RIOND, C.; PONCET, C.; BLOT, A.-M.; POUTON, F. P.; BÈGUE, Y.-J. Dietary supplementation with *Agaricus blazei* murill extract prevents diet-induced obesity and insulin resistance in rats. *Obesity*, v. 21, n. 3, p. 553-561, 2013. doi: 10.1002/oby.2012.139.

WANG, P.; LI, X.-T.; SUN, L.; SHEN, L. Anti-Inflammatory Activity of Water-Soluble Polysaccharide of *Agaricus blazei* Murill on Ovariectomized Osteopenic Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2013, e164817, 2013. doi: 10.1155/2013/164817.

XU, Y.; XU, T.; HUANG, C.; AMAKYE, W. K.; LI, K.; ZHU, Y.; REN, J. The Age-Dependent Anticancer Efficacy of *Agaricus blazei* Murill Polysaccharide in Colon Cancer.

*Molecular Nutrition & Food Research*, v. 69, n. 1, p. 1-8, 2025. doi: 10.1002/mnfr.202400702.

#### **AGÊNCIA DE FOMENTO:**

Este trabalho foi apoiado pela CAPES através do Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP) pelo Auxílio Financeiro a Projeto Educacional ou de Pesquisa (AUXPE), com processo de número 88881.594204/2020-01 com número de auxílio 1359/2020.

**RECEBIDO:16.6.2025**

**ACEITO:16.7.2025**

**PUBLICADO: 17.4.2025**