

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

MARCELO DE SOUZA GENNARI

**IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO COM *Agaricus* SOBRE O
NÚMERO DE CÉLULAS "NATURAL KILLER" COMO UMA
TERAPIA ADJUVANTE PARA PACIENTES COM CÂNCER EM
TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO**

**ARACAJU
2011**

MARCELO DE SOUZA GENNARI

**IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO COM *Agaricus* SOBRE
O NÚMERO DE CÉLULAS "NATURAL KILLER" COMO
UMA TERAPIA ADJUVANTE PARA PACIENTES COM
CÂNCER EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação
em Medicina da Universidade Federal de Sergipe como
requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Murilo Marchioro

**ARACAJU
2011**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

G333i Gennari, Marcelo de Souza
Impacto da suplementação com Agaricus sobre o número de células "Natural Killer" como uma terapia adjuvante para pacientes com câncer em tratamento quimioterápico / Marcelo de Souza Gennari. – Aracaju, 2011.
79 f.

Orientador (a): Prof. Dr. Murilo Marchioro.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Núcleo de Pós-Graduação em Medicina.

1. Agaricus (Agaricaceae) 2. Câncer - tratamento 3. Células NK
4. Imunologia 5. Botânica sistemática 6. Farmacologia I. Título.

CDU 582.284.51:615

MARCELO DE SOUZA GENNARI

**IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO COM *Agaricus* SOBRE
O NÚMERO DE CÉLULAS "NATURAL KILLER" COMO
UMA TERAPIA ADJUVANTE PARA PACIENTES COM
CÂNCER EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação
em Medicina da Universidade Federal de Sergipe como
requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em
Ciências da Saúde.

Aprovada em: 20/05/2011

Orientador: Prof. Dr. Murilo Marchioro

1º Examinador: Prof. Dr. José de Felipe Júnior

2º Examinador: Profa. Dra. Sara Maria Thomazzi

PARECER

O candidato foi considerado **APROVADO**, por considerar a relevância científica do trabalho, bem como as possibilidades de desdobramento da pesquisa apresentada.

Obrigado meu pai!

Em nome daqueles pesquisadores que hoje conquistam o seu próprio espaço graças a sua coragem de iniciar algo que ninguém e nem mesmo eles outrora acreditavam.

Obrigado meu pai!

Em nome daqueles que por sua causa ainda estão vivos e também daqueles que puderam viver seus últimos dias com a dignidade e a força de um grande lutador.

Obrigado meu pai!

Por tudo que ao seu lado aprendi...

Por tudo que ao seu lado vivi...

Afinal: “A vida não vale nada se você não tem uma boa história para contar”.

Obrigado meu pai!

Obrigado meu Prof. Dr. Jorge Laerte Gennari,

Com muito amor e carinho,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e professor Murilo Marchioro pela acolhida em minha chegada à UFS, pela sua confiança em mim depositada e pelos seus conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Virgílio Fernandes de Araújo Jr. e sua esposa Dra. Tânia Maria Biller Teixeira, meu muito obrigado por terem aberto as portas da cidade para que eu pudesse dar início a esta jornada e também por terem recebido minha família como parte da sua própria.

À minha mãe, Maria Aparecida de Souza Gennari, por cada oração realizada, por cada momento sofrido em meu apoio e principalmente por sempre ter sido a fonte de carinho e de amor que me permitiu ficar intacto frente a cada injúria sofrida nesta empreitada.

À minha amada esposa, Janaina Bianca Barletta, cuja capacidade e habilidade em ensinar montaram cada parte desta minha história e cuja contagiante felicidade em ser professora e pesquisadora influenciará cada momento do meu significado como mestre. Obrigado pelo seu amor, seu carinho, sua companhia...

Aos meus filhos Pedro e Izabela, que talvez nunca entendam quantos foram os momentos perdidos e quantos foram os mal vividos à custa dos sonhos de seu pai. Obrigado meus filhos, foram os doces momentos com vocês os melhores da minha jornada e os que garantiram que eu chegasse até aqui.

Aos meus irmãos, Cristina e Jorge, pelos anos de convivência feliz que passamos e pelas lições que juntos aprendemos as quais certamente me trouxeram até onde estou.

Aos meus sobrinhos Natália, Isadora, Ricardo, Bruno e Victória. Obrigado pelo amor incondicional de vocês que me conquistou e sempre me acompanhou.

À minha cunhada Cristina Bachert, minha prima Glaucia e minha sobrinha Fernanda, por mostrarem em seus momentos difíceis o que é ser forte e o que é perseverar.

Ao meu cunhado Dr. Eduardo Amaro e a toda sua família, que de braços abertos acolheu a minha nos momentos mais importantes da sua existência.

A toda família de minha esposa que me recebeu como um dos seus, em especial aos meus sogros, Walter Barletta e Rosemari Barletta, por sempre terem acreditado em meu potencial e pelo muito que me ajudaram em minha caminhada.

À Profa. Dra. Sara Thomazzi, ao Prof. Dr. Charles Estevam e ao Prof. Dr. José de Felipe Júnior pela sua paciência e pela sua valorosa ajuda em minha etapa final.

À Dra. Arailde Fontes Urbem, da EMBRAPA, que com sua competência e com sua alegria irradiante como pesquisadora de cogumelos tornou prazerosos os caminhos deste estudo.

Ao meu mestre e amigo Prof. Carlos Eduardo Walter, de Sorocaba, que com o dom da paciência e sensibilidade sempre me fez entender as inúmeras possibilidades do meu caminho. Receba meu obrigado em nome daqueles professores e amigos aqui anônimos, mas que sempre em mim acreditaram.

Ao Prof. Dr. Ugo Maia Andrade e Marina Sallovitz Zacchi, em nome dos meus novos amigos, pelo imenso apoio e principalmente por todo o carinho dado a minha família em todos os momentos de ausência em minha reta final.

Aos meus colegas do curso, que participaram comigo em vários momentos importantes que enfrentamos e superamos com determinação.

A todas as pessoas, que de uma ou de outra maneira, apesar de não citadas aqui, deram a sua contribuição.

Ao Prof. Sérgio Paulo de Tarso Domingues, por ter acreditado em mim quando eu, ainda recém formado, viajava nos sonhos e magias do meu espírito professor e pesquisador, e por ter sido ao meu lado outro “cientista maluco”. Obrigado meu amigo, principalmente por ter me colocado de volta naquela viagem quando eu já havia desistido. Eis um dos finais...

RESUMO

O câncer é responsável por 13% das mortes em âmbito mundial e cada vez mais se faz o uso de medicamentos e alimentos alternativos. Durante o desenvolvimento das neoplasias malignas a imunossupressão pode ser agravada ou pela própria doença ou pelas formas agressivas de tratamento como a quimioterapia. Um cogumelo medicinal que tem despertado o interesse de pesquisadores pela sua ação sobre o sistema imunológico é de origem brasileira e por ter várias sinonímias (como *Agaricus blazei* e *Agarius sylvaticus*) foi chamado de *Agaricus* neste estudo. Com o objetivo de analisar o efeito da quimioterapia e da suplementação com *Agaricus* sobre o comportamento do sistema imunológico de pacientes com câncer em tratamento quimioterápico, foram verificados os prontuários de pacientes ambulatoriais voluntários, acompanhados em uma clínica particular de oncologia, os quais realizaram uma análise quantitativa através dos registros de contagem de células do sistema imunológico, entre elas as células “Natural Killer” (NK). Foram estudados 36 pacientes com diferentes tipos de câncer confirmado por exame histopatológico e com indicação de tratamento quimioterápico. Do total, 11 pacientes do grupo controle foram submetidos à quimioterapia, sendo que 10 deles (90,9%) apresentaram redução significativa das células NK ($p=0,005$). Outros 15 pacientes se submeteram a terapia adjuvante com *Agaricus*, sendo que 10 deles (66,7%) apresentaram aumento significativo das células NK ($p=0,004$). Dentre os 10 pacientes que iniciaram a suplementação após já estarem sendo submetidos ao tratamento quimioterápico, 8 (80,0%) apresentaram aumento das células NK ($p=0,027$). Os 11 pacientes do grupo controle iniciaram suplementação após a contagem de células NK durante a quimioterapia e a partir daí 100% deles apresentou aumento das células NK ($p=0,001$). Ficou evidenciado um aumento do número de células NK após a suplementação com *Agaricus*, e acreditamos que esta terapia nutricional seja promissora no tratamento do câncer através da imunomodulação.

DESCRITORES: *Agaricus*, Câncer, Células NK, Resposta Imunológica.

ABSTRACT

Cancer is currently responsible for 13% of the worldwide deaths and researches on alternative treatments have drawn attention. During the development of malignant neoplasm, immunosuppression can be aggravated or affected by disease itself, or by aggressive sorts of treatment, such as chemotherapy. A medicinal mushroom that has aroused the interest of researchers is of Brazilian origin and once it has several synonyms (as *Agaricus blazei* and *Agarius sylvaticus*) is referred in this article as *Agaricus*. Objectifying to analyze the behavior of the immunologic system of cancer patients being treated with chemotherapy and the effect of dietary supplementation with *Agaricus*, were verified the records of voluntary outpatients diagnosed with cancer and indications for chemotherapy, followed in a particular clinical oncology, and conducted a quantitative analysis of the records of NK cell count. We involved 36 cancer patients with chemotherapy indication. From these, 11 patients from the control group were submitted to chemotherapy, and 10 of them (90.9%) presented significative reduction of NK cell-number ($P=0.005$); 15 patients were submitted to pretreatment with *Agaricus*, and 10 (66.7%) presented significative improvement of NK cell-number ($P=0.004$); 10 patients started supplementation after chemotherapy had started, and 8 (80.0%) presented improvement of NK cell-number ($P=0.027$). The 11 control group patients opted to adhere to the supplementation after NK cell-count during chemotherapy, and 100% of them showed a raise in NK cell-number ($P=0.001$). Evidence strongly suggests that *Agaricus* supplementation causes a significant raise in the number of NK cells in cancer patients submitted to chemotherapy, and we believe this nutritional therapy can give support to cancer treatments, by providing immunopotentialiation.

Key words: *Agaricus*, Cancer, NK cells, Immune response

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 – CRITÉRIOS USADOS PARA A SEPARAÇÃO DOS GRUPOS..... | 29 |
| TABELA 2 – TIPOS DE CÂNCER..... | 32 |
| TABELA 3 – TIPOS DE QUIMIOTERÁPICOS..... | 33 |
| TABELA 4 – PRÓSITO DA QUIMIOTERAPIA..... | 34 |
| TABELA 5A – CARACTERÍSTICAS DA NEOPLASIA DOS PACIENTES DO GRUPO CONTROLE..... | 37 |
| TABELA 5B – CARACTERÍSTICAS DO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO DOS PACIENTES DO GRUPO CONTROLE..... | 38 |
| TABELA 6A - CARACTERÍSTICAS DA NEOPLASIA DOS PACIENTES DO GRUPO <i>Agaricus</i> | 39 |
| TABELA 6B - CARACTERÍSTICAS DO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO DOS PACIENTES DO GRUPO <i>Agaricus</i> | 40 |
| TABELA 7A - CARACTERÍSTICAS DA NEOPLASIA DOS PACIENTES DO GRUPO III..... | 41 |
| TABELA 7B - CARACTERÍSTICAS DO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO DOS PACIENTES DO GRUPO III..... | 42 |
| TABELA 8 – ANÁLISE DO IMPACTO DA QUIMIOTERAPIA SOBRE O NÚMERO DAS CÉLULAS NK DOS PACIENTES DO GRUPO CONTROLE.... | 43 |
| TABELA 9 – EFEITO DA TERAPIA ADJUVANTE COM <i>Agaricus</i> INICIADA JUNTO COM A QUIMIOTERAPIA SOBRE O NÚMERO DAS CÉLULAS NK..... | 46 |
| TABELA 10 - EFEITO DA TERAPIA ADJUVANTE COM <i>Agaricus</i> , SOBRE O NÚMERO DE CÉLULAS NK DO GRUPO IA (SEGUNDO MOMENTO DO GRUPO CONTROLE)..... | 51 |
| TABELA 11 - EFEITO DA TERAPIA ADJUVANTE COM <i>Agaricus</i> SOBRE O NÚMERO DAS CÉLULAS NK DOS PACIENTES QUE ADERIRAM A SUPLEMENTAÇÃO COM A QUIMIOTERAPIA EM ANDAMENTO..... | 54 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 – EVOLUÇÃO DAS CONTAGENS DA NK DOS PACIENTES DO GRUPO CONTROLE | 43 |
| FIGURA 2 – DISTRIBUIÇÃO DO GRUPO CONTROLE DE ACORDO COM O PERÍODO DO TRATAMENTO E EVOLUÇÃO DA NK0-NK1. | 44 |
| FIGURA 3 – EVOLUÇÃO DAS CONTAGENS DA NK DOS PACIENTES DO GRUPO <i>Agaricus</i> | 45 |
| FIGURA 4 – DISTRIBUIÇÃO DO GRUPO <i>Agaricus</i> DE ACORDO COM O PERÍODO DO TRATAMENTO E EVOLUÇÃO DA NK1-NK2..... | 47 |
| FIGURA 5 – IMPACTO DA TERAPIA ADJUVANTE COM <i>Agaricus</i> | 48 |
| FIGURA 6 – COMPARAÇÃO DO NÚMERO DAS CÉLULAS NK DO GRUPO CONTROLE E DO GRUPO <i>Agaricus</i> EM CONTAGENS REALIZADAS ANTES DA QUIMIOTERAPIA..... | 49 |
| FIGURA 7 - EVOLUÇÃO DAS CONTAGENS DA NK DOS PACIENTES DO GRUPO IA (GRUPO CONTROLE APÓS SUPLEMENTAÇÃO COM <i>Agaricus</i>)..... | 50 |
| FIGURA 8 - DISTRIBUIÇÃO DO GRUPO CONTROLE DE ACORDO COM O PERÍODO DO TRATAMENTO E EVOLUÇÃO DA NK1/NK2..... | 52 |
| FIGURA 9 - EVOLUÇÃO DAS CONTAGENS DA NK DOS PACIENTES DO GRUPO III..... | 53 |
| FIGURA 10 - DISTRIBUIÇÃO DO GRUPO III DE ACORDO COM O PERÍODO DO TRATAMENTO E EVOLUÇÃO DA NK1-NK2..... | 55 |
| FIGURA 11 – COMPARAÇÃO ENTRE AS CONTAGENS DAS CÉLULAS NK COM E SEM SUPLEMENTAÇÃO COM <i>Agaricus</i> REALIZADAS DURANTE A QUIMIOTERAPIA | 56 |
| FIGURA 12 - COMPARAÇÃO DAS IDADES DO GRUPO CONTROLE E GRUPO <i>Agaricus</i> | 57 |
| FIGURA 13 - EFEITOS DA IDADE NOS COMPONENTES CELULARES DA IMUNIDADE INATA..... | 64 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 16 |
| 2.1 A NATUREZA DOS COGUMELOS..... | 16 |
| 2.2 AS GLUCANAS DOS COGUMELOS..... | 17 |
| 2.3 O COGUMELO E O SISTEMA IMUNOLÓGICO..... | 18 |
| 2.4 A INTERAÇÃO ENTRE A RESPOSTA IMUNOLÓGICA E O CÂNCER..... | 20 |
| 2.5 A CÉLULA NATURAL KILLER..... | 24 |
| 3 OBJETIVOS | 26 |
| 4 MÉTODOS | 27 |
| 4.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO ESTUDO..... | 27 |
| 4.2 PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS..... | 28 |
| 4.3 PACIENTES..... | 28 |
| 4.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO..... | 28 |
| 4.3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO..... | 29 |
| 4.3.3 AMOSTRA EM ESTUDO..... | 29 |
| 4.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO..... | 30 |
| 4.4.1 CONTAGEM DAS CÉLULAS NK..... | 30 |
| 4.4.2 VARIÁVEIS INDEPENDENTES..... | 31 |
| 4.5 SUPLEMENTAÇÃO COM <i>Agaricus</i> | 34 |
| 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 35 |
| 5 RESULTADOS | 36 |
| 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA..... | 36 |
| 5.1.1 O GRUPO CONTROLE..... | 37 |
| 5.1.2 O GRUPO <i>Agaricus</i> | 38 |
| 5.1.3 O GRUPO III..... | 40 |
| 5.2 IMPACTO DA QUIMIOTERAPIA SOBRE O NÚMERO DE CÉLULAS NK DO GRUPO CONTROLE..... | 42 |
| 5.3 IMPACTO DA QUIMIOTERAPIA SOBRE O NÚMERO DE CÉLULAS NK DO GRUPO <i>Agaricus</i> | 45 |
| 5.4 A EFICÁCIA DA TERAPIA ADJUVANTE COM <i>Agaricus</i> | 48 |

| | |
|--|-----------|
| 5.5 COMPARAÇÃO ENTRE AS CÉLULAS NK ANTES DA QUIMIO..... | 49 |
| 5.6 O EFICÁCIA DA TERAPIA ADJUVANTE COM <i>Agaricus</i> INICIADA COM QUIMIOTERAPIA EM ANDAMENTO..... | 50 |
| 5.6.1 O SEGUNDO MOMENTO DO GRUPO CONTROLE..... | 50 |
| 5.6.2 O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NO GRUPO III..... | 52 |
| 5.7 COMPARAÇÃO ENTRE CONTAGENS DE NK EM QT SEM <i>Agaricus</i> E AS CONTAGENS DE NK EM QT COM <i>Agaricus</i> | 55 |
| 5.8 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES..... | 57 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 58 |
| 7 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS..... | 65 |
| REFERÊNCIAS..... | 67 |

1 INTRODUÇÃO

*Há mais de 500 mil anos quando o moderno era
viver dentro das cavernas, um homem, acusado de
louco, saiu em busca de coisas novas e assim
construiu a humanidade dos dias atuais.
Hoje, prefiro ser como aquele louco e sair das
nossas “modernas cavernas” em respeito àqueles
que precisam de mim na luta pela própria vida.
Jorge Laerte Gennari*

Em 2008, o câncer foi responsável por 7,6 milhões de mortes, o que representou 13% de todas as mortes ocorridas no mundo. Estima-se que em 2030 o número de mortes seja da ordem de 11 milhões (WHO, 2011). No Brasil, ocorrem mais de 130.000 mortes por câncer por ano e as estimativas para o ano de 2011, apontam que ocorrerão cerca de 489.270 casos novos de câncer (INCA, 2009).

A biologia, a etiologia e a fisiopatologia do câncer não estão totalmente estabelecidas, porém seus fatores de risco como o tabagismo, sobrepeso ou obesidade, baixa ingestão de frutas e vegetais, inatividade física, alcoolismo, doenças sexualmente transmissíveis (DST), inalação de gases combustíveis e poluição estão intimamente relacionados com uma deficiência da resposta imunológica. Apesar disso, pesquisas envolvendo o sistema imunológico e o câncer ainda buscam o seu consenso, talvez pelo fato da imunologia ser uma ciência relativamente jovem com pouco mais de um século, se for considerado a figura de Louis Pasteur como o "pai da imunologia". A história da imunologia começa na década de 1950 (LUENGO, 2005), e foi somente com os estudos das proteínas receptoras e identificadoras que houve o grande salto científico na área, em especial na sua relação com o câncer (BEUTLER, 2004).

Durante o curso de uma neoplasia maligna, o processo de imunossupressão que pode ocorrer em muitos pacientes pode ser agravado ou pela própria doença ou pela administração da terapêutica agressiva, incluindo cirurgia, radioterapia e ou quimioterapia (QT), resultando

em baixa contagem de linfócitos T e B, refletindo nas células CD4 e CD8, bem como sobre as células natural killer (NK) (TSAVARIS et al., 2002; CROUGH et al., 2004). Por outro lado, diversos trabalhos têm enfatizado que o alto número de células NK pode melhorar significativamente o prognóstico dos pacientes com neoplasias malignas (MOTOHASHI; NAKAYAMA, 2008; ALMEIDA-OLIVEIRA; DIAMOND, 2008) enquanto estudos epidemiológicos associam o aumento do risco de câncer com a baixa atividade das células NK (IMAI et al., 2000; NAKACHI et al., 2004) e, ao mesmo tempo, outros comprovam o efeito imunossupressor da quimioterapia sobre as células NK (MOZAFFARI et al., 2007).

Recentemente acompanhamos a luta de José de Alencar contra um câncer que durou longos anos e que foi marcada pelo acesso aos melhores hospitais, melhores profissionais e principalmente a equipamentos modernos e medicamentos novos, alguns ainda experimentais. Durante 14 anos de internações e cirurgias José de Alencar confessa após receber alta de uma operação de 17 horas para a retirada de tumores na região superior do abdômen: “Sei que todos deveriam ter esse tratamento. Se tivessem, as expectativas de vida seriam outras”, disse, em fevereiro de 2009 (SANTANA, 2011).

Em estudo realizado por Brito, Portela e Vasconcellos (2005) sobre o atendimento ao paciente com câncer de mama do Rio de Janeiro, a dificuldade de acesso aos serviços de saúde com finalidade diagnóstica, a pouca efetividade da política de detecção precoce para o câncer de mama, a baixa produtividade de algumas unidades assistenciais, e a desintegração entre os diversos níveis do sistema seriam prováveis fatores para a demora na detecção do câncer de mama e conseqüentemente, um aumento do número de casos com pior prognóstico. Nem mesmo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), centro de excelência no tratamento gratuito de câncer no país, escapa das falhas na prestação de serviço a quem depende do sistema público, o qual tem como gargalo a oferta limitada de vagas. Em 2010, para ser atendido em um dos seus centros de excelência, havia uma fila de 1.626 pessoas (SINDFARMAJP, 2010).

Nos últimos anos, várias são as matérias jornalísticas como a matéria realizada pela jornalista Souza (2010), intitulada “Oncologia no Estado vira caso de Polícia”, que aponta a falta de atendimento aos pacientes com câncer no Estado de Sergipe. Afundada neste caos desalentador da saúde pública, a procura por novas perspectivas de cura vem lançando uma grande parcela da população aos tratamentos alternativos, mesmo sem indicação ou controle profissional adequado. Preenchendo este cenário, surgem os produtos de origem natural, os

quais são erradamente, mas propositalmente, vendidos como fitomedicamentos, com sua maior acessibilidade e com a promessa da ausência de efeitos colaterais. O uso de medicamentos a base de plantas data do início da civilização e ainda hoje, em especial nos países asiáticos, ocupa grande espaço na preferência popular e científica até mesmo no combate a doenças como o câncer. Não se pode esquecer ainda que muitos dos fármacos de desenvolvimento complexo foram obtidos através dos estudos de moléculas encontradas na natureza como é o caso do Taxol®, quimioterápico usado contra o câncer (KINGSTON, 2001).

Mesmo com o advento dos modernos fármacos sintéticos de alta especificidade, a terapêutica com plantas medicinais jamais deixou de ser utilizada. Ao contrário, seu consumo tem se mantido em ascensão. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 80% da população mundial faz uso de produtos à base de plantas medicinais, um mercado de cerca de 60 bilhões de dólares (WHO, 2002). Somente no Brasil, o setor fitoterápico movimenta anualmente um bilhão de reais em toda sua cadeia produtiva e emprega mais de 100 mil pessoas no Brasil, segundo dados publicados no site da Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde (ABIFISA, 2008).

Os países desenvolvidos, como a Alemanha e Estados Unidos, são os maiores consumidores dos produtos de origem natural e os utilizam por motivos diferentes daqueles dos países subdesenvolvidos. Nos países desenvolvidos, a maior preocupação com os efeitos adversos dos farmacoquímicos é preponderante sobre a maior acessibilidade que é maior causa do consumo desenfreado nos países subdesenvolvidos (FERREIRA, 1998).

Certamente um conjunto de fatores como as deficiências no sistema de saúde oficial, o alto custo dos farmacoquímicos, a fragilidade da educação e aspectos culturais influenciam na decisão da opção por fitomedicamentos, infelizmente nem sempre com a segurança adequada. É fato que a aceitação popular dos produtos de origem natural é baseada, sobretudo, na crença da sua eficácia e da suposta impossibilidade de efeitos adversos (FERREIRA, 1998; WHO, 2002). É evidente que extratos ou infusões de plantas podem ser usados desde que sejam verificados todos seus efeitos e limitações.

Os cogumelos são usados com fins medicinais a milhares de anos. O mais antigo manuscrito acerca de propriedades medicinais em cogumelos foi encontrado na China e data de cerca de 3000 AC. A utilização de cogumelos com finalidades nutritivas e medicinais,

como recurso terapêutico popular de uso empírico, era e ainda é feita por milhões de indivíduos, em especial no oriente. Através das gerações, foram sendo transmitidas as qualidades medicamentosas de vegetais ou fungos para inúmeras doenças humanas. Tal crédito se dava mesmo sem que a ciência da época tivesse meios para detectar seus princípios ativos, responsáveis pelos mecanismos de ação no combate às diversas patologias, principalmente naquelas cujas desordens do sistema imunológico são preponderantes. Na farmacopéia Chinesa são reconhecidas mais de cem espécies de cogumelos no uso da medicina tradicional e muitos medicamentos são derivados de cogumelos, sendo produzidos por indústrias farmacêuticas do Japão, Coréia, China e USA (SMITH; ROWAN; SULLIVAN, 2002).

No Brasil, um cogumelo conhecido popularmente como cogumelo do sol, está ganhando a atenção devido a sua forte propriedade antioxidante (PERCARIO et al., 2009), pela sua capacidade de impedir a formação de placas de ateroma (PERCARIO et al., 2008) e pelo seu elevado teor de β -glucana, cuja aplicação vem sendo estudada em pacientes com câncer pelo seu efeito imunomodulador (ROSS et al., 1999). A presença de substância antiangiogênica com ação antitumoral e antimetastática tem sido outra área de importantes estudos neste cogumelo (TAKAKU; KIMURA; OKUDA, 2001; KIMURA et al., 2004).

Considerado por alguns uma espécie particular de cogumelo medicinal, e por isso despertando muito interesse em pesquisadores de todo o mundo, o cogumelo de origem brasileira é conhecido na literatura especializada com várias sinônimas como *Agaricus blazei*, *Agaricus sylvaticus* ou *Agaricus brasiliensis*, promovendo certa confusão taxonômica, porém, um estudo de DNA com amostras de todos eles realizado por Kerrigan (2005), verificou que se tratava de uma espécie previamente descrita como *Agaricus subrufescens*, enquanto Urban (2007) já verificava que as amostras brasileiras se tratavam de uma só espécie. Assim, para maior simplicidade, será referido neste estudo apenas como cogumelo *Agaricus*, sendo que a origem da espécie utilizada neste estudo vem de cultura em campo aberto na região da cidade de Piedade, São Paulo, Brasil.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A NATUREZA DOS COGUMELOS

Os cogumelos comestíveis são fungos, e assim, pertencem ao Reino Fungi com suas características peculiares e bastante especiais. São seres vivos eucarióticos, não fazem fotossíntese e não produzem seu próprio alimento. São aeróbicos e geralmente necessitam de fontes orgânicas para sua sobrevivência. Não realizam fotossíntese e a nutrição é feita por absorção produzindo então enzimas que hidrolisam uma grande variedade de substratos para torná-los assimiláveis. Para seu desenvolvimento e manutenção exigem glicose, sacarose, maltose, amido, cálcio e celulose, além de elementos como ferro, zinco, manganês, cobre e molibdênio. Ressaltando a importância da qualidade do seu meio de cultivo, certos fungos comestíveis requerem fatores de crescimento que não conseguem sintetizar como vitaminas do tipo tiamina, biotina, riboflavina, ácido pantotênico e aminoácidos (URBEN et al., 2001).

Os fungos são agentes responsáveis em grande parte pela decomposição das substâncias orgânicas, sendo excelentes biodegradadores e, por isso, são conhecidos como os “lixeiros do universo”. De prático, o que chama a atenção nestas características é a grande possibilidade de mudanças radicais em sua composição bioquímica de acordo com seu ambiente de crescimento. De fato, seu crescimento está diretamente relacionado com o pH do substrato, a temperatura do ambiente, a incidência de luz, a quantidade de oxigênio do ambiente e a presença de água, inclusive da água no ar (URBEN et al., 2001). Assim, a composição dos cogumelos vai depender não só da sua capacidade de biodegradação, que pode variar de espécie para espécie, mas também da constituição do substrato e das condições ambientais onde ele está sendo cultivado. Entendemos que isto se torna de grande importância na escolha do produto para fins de pesquisa o que pode estar levando a resultados controversos encontrados na literatura.

Os cogumelos comestíveis, como o *Agaricus* do nosso estudo, tem estrutura filamentosa, ou seja, são organismos pluricelulares em forma de tubo formando colônias algodonosas ou aveludadas (bolores). Esses elementos filamentosos são chamados de hifas. O conjunto de hifas forma os micélios que se desenvolvem geralmente dentro do substrato onde

o fungo se fixa e desenvolvem formações que emergem do substrato, tornando-se visíveis, formando então os corpos de frutificação, popularmente conhecidos por cogumelos.

O uso histórico dos chás de cogumelos com fins medicinais, especialmente enraizado na cultura oriental, levou aos pesquisadores a estabelecerem seus estudos nos corpos de frutificação, porém a particularidade da forte influência do substrato e ambiente no crescimento e composição bioquímica final do fungo, além de encarecer e dificultar a produção adequada pode ocasionar diferenças bioquímicas importantes nos extratos finais. Assim, hoje não são poucos os estudos realizados diretamente com o micélio na tentativa de obter subprodutos de maior qualidade, principalmente quando se estuda seu possível efeito antitumoral. No entanto, seu crescimento a luz solar e sob a influência de um meio de cultura adequado, tem promovido no corpo de frutificação o surgimento de nutrientes importantes na alimentação humana como vários tipos de minerais, vitaminas, fibras, proteínas e carboidratos (FURLANI; GODOY, 2007), em especial uma classe de polissacarídeos muito pesquisada e de interesse mundial pelos seus efeitos sobre o sistema imunológico, as glucanas.

2.2 AS GLUCANAS DOS COGUMELOS

As β -glucanas, β -(1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 6)-glucanas, talvez as mais estudadas no cogumelo pelo seu efeito imunomodulador, pertencem a um grupo heterogêneo de polímeros de glicose, consistindo de uma cadeia principal de β (1 \rightarrow 3) ligada a β -D-glucupiranosil unidos com β (1 \rightarrow 6) ligadas à cadeia principal lateralmente em sua extensão (TZIANABOS, 2000). Estes polissacarídeos são as principais estruturas das membranas das células dos cogumelos, plantas e algumas bactérias, não sendo encontrados em animais multicelulares. Na verdade, o *Agaricus* utilizado neste estudo contém 120mg de β -glucana/g (HI et al., 2008).

Nos humanos, o que acontece após a ingestão da glucana até sua absorção não está bem elucidado. No entanto, estudos em animais sugerem que a glucana após ser absorvida no intestino é rapidamente capturada pelos macrófagos e então fragmentada. Estes pequenos fragmentos são liberados na circulação onde agem diretamente nos granulócitos, monócitos e células dendríticas (CHAN; CHAN; SZE, 2009).

Em pesquisa realizada por De Felipe Júnior (1993), ficou demonstrado diminuição do risco de infecção bem como da mortalidade em pacientes hospitalizados com múltiplos traumas que se submeteram a tratamento com glucana endovenosa, obtida do fungo *Saccharomyces cerevisiae*. Por outro lado, dados indicam um potencial efeito imunomodulador que algumas glucanas como o PSK[®], retirado do micélio do cogumelo *Coriolus versicolor*, e o PSP[®], retirado do corpo frutífero do mesmo cogumelo, tem demonstrado efeitos sobre o sistema imunológico em ensaios clínicos controlados, aumentando alguns parâmetros imunológicos como a atividade das células natural killer e a citotoxicidade dos leucócitos (NIO et al., 1992; TSANG et al., 2003).

As glucanas são detectadas pelo sistema imune inato e adaptativo (JANEWAY, 1992; MUTA; IWANAGA, 1996; BATTLE et al., 1998). Os receptores das β -glucanas tem sido frequentemente encontrados em uma variedade de leucócitos, incluindo os macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e células NK (HOFER et al., 2001), bem como células não pertencentes ao sistema imunológico como células endoteliais, epiteliais, alveolares e fibroblastos. Este mecanismo de recepção das β -glucanas, não está ainda muito bem esclarecido, embora sejam vários os receptores apontados, como CR3, Lactosilceramide (CDw17), receptores varredores, e dectinas. Dentre estes, as dectinas-1, são as que mais claramente tem o papel na mediação da resposta biológica (BATTLE et al., 1998; BROWN; GORDON, 2003).

2.3 O COGUMELO E O SISTEMA IMUNOLÓGICO

Aos cogumelos são imputadas várias propriedades medicinais, incluindo antiviral, antibacteriana, anti-inflamatória, hipoglicemiante e anti-hipertensiva. No entanto, o efeito antitumoral é de longe o mais interessante, provavelmente devido à presença de moléculas de imunoestimulantes, tais como β -glucan (MIZUNO et al., 1995) e antioxidantes.

Há muito, pesquisas vem destacando a capacidade de alguns cogumelos comestíveis em aumentar o número e a atividade das células NK (NAKAMURA; MATSUNAGA, 1998; COSISKI MARANA; SILVA; ANDRADE, 2000), de fato, em tumor de Ehrlich induzido em ratos, o cogumelo *Agaricus blazei* promoveu baixa atividade proliferativa, provavelmente

devido a um aumento das células NK (KANENO et al., 2004). Um efeito similar foi observado pela administração do *Pleurotus ostreatus* (SHYLYAKHOVENKO; KOSAK; OLISHEVSKY, 2006). Além disso, o *Agaricus bisporus*, um cogumelo comestível largamente consumido, aumentou a atividade das células NK em um modelo animal de tumor (WU et al., 2007).

Evidências sugerem que o efeito sobre o sistema imunológico ocorra através da estimulação da maturação, diferenciação ou da proliferação das células envolvidas no mecanismo de defesa. A maioria destes efeitos é pautada na habilidade bioativa dos polissacarídeos ligados ou não a proteínas contidas nos mais diversos tipos de cogumelos. Esta habilidade parece interferir em quase todo o “mapa” fisiológico do sistema imunológico.

Em estudo “in vitro” realizado com o extrato do *Agaricus*, utilizando amostras de sangue humano de voluntários saudáveis, notou-se ativação do sistema de complemento e consequente aumento da atividade citotóxica das células nucleadas do sangue periférico (SHIMIZU et al., 2002). Importante é lembrarmos que a ativação do sistema do complemento inicia uma cascata de eventos biológicos capazes de modificar uma resposta imunológica.

Em outro estudo “in vitro” com frações etanólicas do *Agaricus* utilizando macrófagos de camundongos fêmeas ficou demonstrado a ativação dos macrófagos através do aumento da secreção do interferon (INF)- α , da interleucina (IL)-8 e do óxido nítrico (SORIMACHI et al., 2001). Mais tarde, em outro estudo, agora com extrato aquoso do *Agaricus*, em camundongos fêmeas, notou-se um aumento da produção de anticorpos pelos macrófagos peritoneais através da expressão da IL-6 e IL-1 (NAKAJIMA et al., 2002).

Em estudos anteriores, onde se verificou a ação da glucana extraída de cogumelos administrada por via oral em camundongos machos, foi demonstrado o aumento do número de macrófagos, aumento da atividade enzimática, o aumento da atividade fagocitária bem como do aumento da produção de IL-1 (SUZUKI et al., 1990; SAKURAI et al., 1992). Voltando à cascata de eventos do sistema imune, a ativação dos macrófagos promove mudanças na resposta imunológica com a estimulação da maturação e proliferação dos linfócitos.

Extratos alcoólicos obtidos do corpo frutífero de *Agaricus* foram testados em camundongos (administração intratumoral) e proporcionaram o aumento das células CD3, CD4, CD8, CD56 (NK), linfócitos B e macrófagos. O aumento da citotoxicidade celular das células NK bem como efeito tumoricida direto também foram evidenciados (FUJIMIYA et

al., 1998). No mesmo ano, estudo com administração via oral de extratos do mesmo cogumelo obtiveram resultados semelhantes (MIZUNO et al., 1998). Enquanto a maioria dos estudos se voltava para o efeito estimulador sobre o sistema imune, Kuo et al. (2002) dirigiram seus estudos para verificar o efeito modulador dos extratos em preparações “in vitro” com amostras de sangue de pacientes saudáveis através da determinação da produção da IL-2, IL-4 e IFN- γ .

Nos últimos anos vem crescendo a realização de estudos clínicos comprovando o efeito biológico anteriormente encontrado em estudos “in vitro” e “in vivo” animal. Porém, talvez os mais marcantes resultados obtidos em estudos que testaram a ação de cogumelos utilizados por via oral em humanos já haviam sido elencados há dez anos por Hobbs (2000). Efeitos como a ativação do complemento, ativação dos macrófagos, aumento da produção de anticorpos, aumento da produção de IL-1, ativação dos leucócitos, ativação e proliferação dos linfócitos T “helper” e ativação das células NK foram conseguidos em estudos clínicos com glucanas de cogumelo, com a chamada Lentinan[®], retirada do cogumelo *Lentinus edodes* (GORDON et al., 1998) e com outra obtida do micélio do cogumelo *Schizophyllum commune*, que já havia sido testada em 15 pacientes com câncer e já mostrava resultados promissores no aumento do número de linfócitos (KIMURA et al., 1994).

Sequencialmente, o que se viu em anos posteriores foi uma verdadeira replicação de trabalhos realizados na década de 90 em mais de uma centena de centros de pesquisa, inclusive em vários centros universitários brasileiros que, ainda hoje, vem insistentemente realizando novamente o que já foi exaustivamente estudado “in vitro” e “in vivo” animal em anos anteriores, porém quase nada se encontra quando se trata de pesquisas em seres humanos.

2.4 A INTERAÇÃO ENTRE A RESPOSTA IMUNOLÓGICA E O CÂNCER

Por intermédio de uma complexa rede de interações o sistema imunológico é capaz de reconhecer ameaças externas e internas colaborando na manutenção da homeostase orgânica. A forma do mecanismo imune contra as células tumorais é basicamente a mesma no combate a qualquer outra célula estranha. Muitas destas respostas envolvem antígenos

presentes na superfície das células tumorais e a imunidade específica ao tumor assemelha-se intimamente com aquelas que ocorrem nas rejeições de transplantes heterólogos envolvendo os fenômenos relativos à fragilidade dos antígenos de órgãos transplantados (BEREZHNAYA, 2010).

A fixação do antígeno na superfície das células tumorais é uma consequência das mudanças plásticas destas células, e são específicas para cada tumor ou grupo de tumores. Existem antígenos que estão presentes somente nas membranas das células tumorais, conhecidos como Antígeno Específico Tumoral (TAA) e são ausentes nas células normais. Eles estão na superfície das células e provocam uma resposta imune específica quando introduzidos no hospedeiro, isto é, o agente oncogênico influencia a origem do antígeno recentemente adquirido (SCHINDLER, 2005).

O sistema imunológico reage de maneira específica (adaptativa) e não específica, quando se referem às reações inatas (inespecífica). Estas ações inatas consistem nas primeiras linhas de defesa contra elementos estranhos ao corpo humano, até o desenvolvimento do sistema imune adaptativo. A imunidade inata não age independentemente da Imunidade adaptativa ou específica, ambas se complementam na defesa dos organismos agredidos e a luta não para até o rendimento total de uma das partes (BEUTLER, 2004). Em geral a maioria das moléculas estranhas ou micro-organismos patogênicos encontram, por parte dos indivíduos com saúde equilibrada, uma reação imunológica inata como primeira defesa, para em seguida acionar as defesas imunológicas específicas ou adaptativas (WOOD, 2006).

O reconhecimento do antígeno é fundamental para a resposta do sistema imune adaptativo e tem origem pela parte interna das células que são apresentadas na superfície das células hospedeiras como pequenos fragmentos de polipeptídios. Por exemplo, a célula hospedeira que foi infectada com um vírus, expressará pequenos fragmentos de proteínas virais em sua superfície, que será instantaneamente reconhecida pela célula T citotóxica. Estes fragmentos de antígenos são apresentados na superfície das células por um grupo de moléculas especializadas. Isto é codificado em um local dos genes conhecido como “Major Histocompatibility Complex” e são chamados de moléculas de MHC. As células T usam seus receptores específicos de antígenos (TCRs) para reconhecer os peptídeos antigênicos ligados a estas moléculas de MHC. O antígeno inicia e impulsiona toda resposta do sistema imune adaptativo. O sistema imune assim envolvido para reconhecer os antígenos, destrói-os e elimina as fontes de sua produção como bactérias, células infectadas por vírus, células

tumorais e etc. Quando o antígeno é eliminado, aquela resposta imune se desliga (MAYER; NYLAND, 2006).

Outra arma da resposta imune adaptativa ou específica é ativada pela imunidade mediada por células (IMC), cuja resposta confere ao corpo humano defesas de responsabilidade dos linfócitos T e várias células do sistema imunológico adaptativo. Elas protegem o organismo contra bactérias intracelulares, viroses e células neoplásicas, sendo responsáveis por sua destruição. A identificação do tumor pelas células “T-Killer” dependem de vários antígenos presentes nas células tumorais, e conta com a ajuda dos linfócitos B, macrófagos e células dendríticas que providenciam os receptores próprios para reconhecimento e destruição destas células tumorais pelos “T-killer”. Entrando em contato com as células tumorais através de seus receptores, os linfócitos “T-Killer” formam uma íntima ligação usando íons de magnésio (Mg) e excretando perforinas que expostas nas membranas das células tumorais e na presença de íons de cálcio (Ca) conseguem formar ductos através dos quais penetram um excesso de água para dentro desta célula provocando sua implosão. Esta importante missão dos linfócitos T é principalmente realizada pela célula NK (ROITT; BROSTOFF; MALE, 2003).

Ainda relacionando o sistema imune com doenças, temos estudos que comprovaram que o estresse afeta o sistema imunológico, através da redução da citotoxicidade dos linfócitos e diminuição das respostas aos mitógenos e aos antígenos (SKLAR; ANISMAN, 1981; RAKHMILEVICH et al., 1996; GOLDSBY; KINDT; OSBORNE, 2000), redução do número dos linfócitos circulantes (EDWARDS; DEAN, 1977); e redução da citotoxicidade dos macrófagos (PAVLIDIS; CHIRIGOS, 1980). Como resultado desta situação os organismos ficam mais suscetíveis a várias doenças, inclusive o câncer (GHONEUM; ASSANAH; STEVENS, 1987).

O conceito da vigilância imunológica na realidade desenvolveu-se nos últimos dez anos, entretanto, as várias hipóteses convergem sempre pela identificação e destruição dos resultados de mutações somáticas ou heranças que representam um potencial perigo para continuidade da vida. Um exemplo de tais ameaças é a instalação de uma doença maligna. Do ponto de vista da medicina humana, a essência desta hipótese é que sem a vigilância imunológica, o câncer seria mais frequente e ocorreria com maior incidência em indivíduos mais jovens. A hipótese que persiste atualmente no aparecimento dos tumores, é que durante a vida de um indivíduo, os carcinógenos representados pelos seus agentes químicos, físicos e

biológicos agredem constantemente suas células normais provocando algumas vezes mudanças no seu DNA, tendo como resultado, um novo tipo de célula, a célula cancerosa. Esta tem a propriedade de possuir um poder mitótico interminável, a imortalidade, isto é, desconhece a morte por apoptose, tem a propriedade de formar metástase pelo implante de brotos neoplásicos em órgãos diferentes do primitivo e uma habilidade de manter inerte o poder de reação do sistema imunológico. Infelizmente, as células tumorais podem evitar a resposta imune, um processo chamado de escape tumoral, por um mecanismo ainda não muito esclarecido. Sabe-se apenas que algumas expressões antigênicas dos complexos peptídicos das células cancerígenas podem não ser reconhecidas pelos linfócitos T. Além disso, algumas células tumorais podem suprimir a resposta imune alterando funções dos linfócitos e macrófagos (NIZAR et al., 2009).

O ponto paradigmático dos tratamentos convencionais do câncer está no fato de que ao mesmo tempo em que promovem a destruição das células tumorais destroem também o sistema imunológico, que neste instante pode ser considerado como a última linha de defesa do organismo contra o câncer (AL-SARRAF et al., 1970; HARRIS et al., 1976; TSAVARIS et al., 2002; ZITVOGEL et al., 2008; BARRET; LE BLANC, 2009). A grande proposta científica dos dias atuais está na combinação dos quimioterápicos adequados com estratégias de manutenção do alerta imunológico. Não se questiona o grande avanço na luta contra o câncer obtido pelo desenvolvimento dos fármacos quimioterápicos, mas sim a negligência em não proporcionar tratamentos coadjuvantes com o objetivo de manter aguçada a resposta imune.

Pacientes com câncer de mama e sobre a influência de tratamento com quimioterapia tiveram seu sistema imune estudado ficando demonstrados os efeitos negativos desta terapia sobre o número e a atividade das células NK. Uma diminuição dos linfócitos bem como da resposta humoral causada pelos quimioterápicos foi identificada (SOLOMAYER et al., 2003). Resultados semelhantes já haviam sido obtidos em estudo com pacientes com câncer de ovário (LUKOMSKA et al., 1983).

2.5 A CÉLULA NATURAL KILLER

A célula natural killer pertence a um subgrupo de linfócitos identificáveis imunologicamente pela presença de granulações em seu citoplasma que contém perforinas, granzimas e proteoglicanas. A exocitose desses grânulos pode lisar osmoticamente as células alvos e também induzir a morte por apoptose pelas vias perforinas/granzimas B, caracterizada por mudanças morfológicas e fragmentação nuclear quando há penetração dos grânulos no seu interior. Por essa via de ação alguns pesquisadores vem encontrando ação seletiva de frações do extrato do *Agaricus* como tumoricida para células cancerosas em camundongos (FUJIMIYA et al., 1999)

As NK expressam em sua superfície o antígeno CD-56 que tem grande capacidade de lisar células alvos. Elas usam um sistema de reconhecimento não necessariamente específico o que lhe confere o nome de natural killer. Rápida e potente, sua ação citotóxica pode ocorrer em minutos. Foram os primeiros linfócitos identificados, que possuíam a capacidade de matar as células tumorais, sem uma ativação ou imunização premeditada, fazendo parte, portanto, da primeira linha de defesa contra células tumorais. Posteriormente, estudos comprovaram sua capacidade de também destruir vírus, e atacar preferencialmente células com carência de expressão antigênica MHC classe I em sua superfície (WU; LANIER, 2003). Tanto “in vitro” como “in vivo” esta habilidade citotóxica pode ser acentuada pela presença das citocinas tais como as interleucinas representadas pelas IL-2, IL-12 e IL-15 e os interferons, representados pelos IFN- α e IFN- γ .

Quando as células estão sob a ação de uma modificação genética (tumor) várias moléculas são produzidas e depositadas na superfície destas células. Um primeiro receptor de células NK chamado “Receptor Ativador Killer”, reconhece estas moléculas induzidas por esta ação subversiva, e nesta interação envia um sinal positivo que habilita a célula NK a matar a célula estranha. Este mecanismo será abortado se o segundo receptor chamado “Receptor Inibidor Killer”, reconhecer a molécula MHC-1 em sua superfície, que estão presentes em todas as células humanas normais. Se a molécula MHC-1 estiver expressa na superfície da membrana celular, o receptor inibidor killer enviará uma mensagem negativa que anula a mensagem matadora, preservando assim a célula. Esta função prioritária das

células NK discriminando entre células normais e células tumorais têm sugerido novas estratégias para combater doenças cancerosas nos humanos (WU; LANIER, 2003).

Viroses e transformações neoplásicas interferem, com a habilidade destas células infectadas ou células tumorais para expressar a molécula MHC-1, assim sem o sinal de inibição, é ativada a mensagem do receptor ativador da célula NK e inicia-se o processo de destruição das células patogênicas.

Os estudos em humanos não atingiram ainda uma fase conclusiva quanto à ação das células NK na prevenção e cura de tumores malignos devido a grande dificuldade em se promover o acompanhamento dos pacientes por um longo tempo. Entretanto sabemos que pacientes imunodeficientes bem como pacientes transplantados em esquemas de tratamentos imunossupressores, que diminuem a atividade destas células, apresentam maiores incidências de neoplasias malignas (RODER et al., 1980; SULLIVAN et al., 1980; GUI; RINALDO; HO, 1983).

Um estudo prospectivo realizado na população japonesa com 11 anos de seguimento revelou que indivíduos com menor atividade das células NK apresentaram maior risco de desenvolver câncer (IMAI et al., 2000). Outros estudos já vinham demonstrando que a redução do número de células NK no sangue periférico é característica de pacientes com câncer, quando comparados com indivíduos sadios (HERSEY et al., 1979; SIBBITT et al., 1984; MICKEL et al., 1988). Estas talvez sejam as primeiras evidências da importância da resposta imune no combate e prevenção do câncer e, em estudo posterior, envolvendo pacientes com câncer de próstata, foi demonstrada a diminuição do número e da atividade das NK, bem como prejuízos na produção de INF- γ (TAHIR et al., 2001).

Verifica-se que a todo o momento estamos sujeitos ao surgimento de células mutantes, mas, ao mesmo tempo, estamos sendo protegidos por um mecanismo que nos garante o equilíbrio necessário, até o momento em que esta vigilância imunológica perde sua capacidade, deixando-nos mais vulneráveis aos agressores do corpo humano (GHONEUN; ASSANAH; STEVENS, 1987; CROUG et al., 2004). Controlar, portanto, esta função imunológica, dando-lhe condições de perpetuar-se o mais tempo possível, significaria redução da incidência do câncer com a esperança de um prolongamento da vida.

3 OBJETIVOS

Verificar o número das células Natural Killer de pacientes com câncer em contagem realizada antes e depois do início da quimioterapia.

Verificar o número das células Natural Killer de pacientes com câncer em contagem realizada antes e depois da suplementação com o *Agaricus* iniciada no mesmo momento da aplicação do primeiro ciclo da quimioterapia.

Verificar o número das células Natural Killer de pacientes com câncer em contagem realizada antes e depois da suplementação com o *Agaricus* iniciada em pacientes já com o tratamento quimioterápico em andamento.

4 MÉTODOS

4.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO ESTUDO

Trata-se de um estudo retrospectivo, onde foram verificados os prontuários de pacientes ambulatoriais com diagnóstico de diferentes tipos de câncer confirmado por exame histopatológico e com indicação de tratamento quimioterápico, acompanhados em uma clínica particular de oncologia (MCM Serviços de Assistência Médica – SP).

Neste ambulatório são realizadas consultas de pacientes, homens e mulheres, com diagnóstico de câncer com a finalidade de indicação do tratamento convencional adequado e acompanhamento médico durante o tratamento convencional. Os pacientes são submetidos a orientações gerais e específicas, necessárias para um tratamento apropriado. Neste sentido, o ambulatório oferece um programa de orientação nutricional embasado no consumo do complemento alimentar constituído do cogumelo *Agaricus*. Os pacientes interessados são submetidos a uma entrevista inicial onde recebem informações sobre a suplementação com o cogumelo *Agaricus* bem como informações sobre a necessidade de manutenção dos tratamentos convencionais indicados pelos especialistas do serviço de oncologia. A inclusão neste programa é voluntária e aberta a todo paciente com qualquer tipo de câncer que queira se inscrever com o compromisso de seguir as orientações necessárias bem como dar continuidade ao seu tratamento convencional de acordo com a indicação dos especialistas e com as diretrizes específicas para cada tipo de câncer.

Este estudo foi aprovado pelo Núcleo de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde e a aprovação ética foi concedida pelo comitê de ética e pesquisa da Universidade Federal de Sergipe (CAAE 00-0078.0.107.000-10).

4.2 PROCEDIMENTO DE COLETA DE DADOS

Foi realizada, em 2010, uma revisão de todos os prontuários dos pacientes com câncer que tiveram contagens de NK realizadas como uma das variáveis de controle do sistema imunológico e também prontuários de todos os pacientes que foram inscritos no programa de suplementação com cogumelo *Agaricus* o qual teve início em 1995 até os pacientes inscritos em 2010.

4.3 PACIENTES

4.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos no estudo todos os pacientes com câncer e com indicação de tratamento quimioterápico que tiveram ao menos uma contagem das células NK realizada antes e outra após o início da quimioterapia, bem como todos os pacientes em tratamento quimioterápico que tiveram ao menos uma contagem das células NK realizada antes e outra após a suplementação com o *Agaricus*.

Os pacientes foram divididos em grupos de acordo com o momento de sua adesão à suplementação com *Agaricus* em relação ao início do tratamento quimioterápico (Tabela 1).

Tabela 1. Critérios usados para a separação dos grupos.

| | |
|-----------|--|
| Grupo I | Grupo Controle. Formado por pacientes que não realizaram suplementação até o controle da NK durante a quimioterapia |
| Grupo IA | Grupo formado por pacientes do Grupo Controle que após realizarem a primeira contagem da NK em quimioterapia iniciaram a suplementação com <i>Agaricus</i> e então realizaram nova contagem de NK. |
| Grupo II | Grupo <i>Agaricus</i> . Pacientes que iniciaram a suplementação com <i>Agaricus</i> junto com o início do primeiro ciclo da quimioterapia. |
| Grupo III | Grupo de pacientes que iniciaram a suplementação com <i>Agaricus</i> com a quimioterapia já em andamento. |

4.3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram estabelecidos como critérios de exclusão:

- Consumo de outro produto de origem natural com potencial efeito imunomodulador;
- Consumo de medicamento imunomodulador;
- Início do consumo de *Agaricus* antes da primeira contagem de células NK;
- Contagem da NK realizada em data considerada como antes do término do ciclo de quimioterapia previamente administrado.

4.3.3 AMOSTRA EM ESTUDO

Junto à secretaria de arquivamento de prontuários e com a supervisão do médico responsável, foi realizada a separação inicial dos prontuários dos pacientes participantes do programa de suplementação bem como dos pacientes não submetidos a suplementação mas com realização de contagens da NK antes e depois da quimioterapia, totalizando 243 prontuários.

Foi realizada uma revisão onde foram excluídos 102 pacientes que iniciaram a suplementação antes da contagem das células NK e posteriormente 101 pacientes que não realizaram quimioterapia.

Preencheram os critérios de inclusão 40 prontuários de pacientes sendo que três foram excluídos por terem realizado pelo menos uma contagem de NK durante o ciclo de quimioterapia proposto e um por associação do agente quimioterápico paclitaxel com trastuzanabe, um novo agente imunomodulador. Dos 36 que cumpriram os critérios de exclusão e inclusão, todos eles puderam constituir a amostra por conterem todas as informações necessárias para a realização do estudo proposto.

4.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO

4.4.1 CONTAGEM DAS CÉLULAS NK

Como variável dependente foi estudada a contagem de células NK realizada antes do início do primeiro ciclo da quimioterapia e a contagem realizada imediatamente antes do início de um novo ciclo de quimioterapia (apresentada neste estudo com NK1 ou NK2 após “ciclo número”). Todas as contagens de NK denominadas como NK0 foram realizadas antes da quimioterapia em pacientes que não se submeteram a suplementação de *Agaricus* ao mesmo tempo do início do tratamento quimioterápico. As denominadas NK1 são as contagens que precederam a suplementação de *Agaricus* (esta realizada antes ou depois do início da quimioterapia) e as NK2 são as contagens realizadas após a suplementação com *Agaricus* e durante o tratamento quimioterápico.

O método realizado para obtenção do número absoluto da célula NK (CD-56) foi a determinação por citometria de fluxo de sangue periférico colhido em EDTA que foi realizada em laboratórios de análise clínica de referência na cidade de São Paulo.

As células são marcadas com três antígenos simultaneamente através de uma reação de imunofluorescência direta utilizando anticorpos monoclonais específicos marcados com os fluorocromos isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), e peridina clorofila

(PerCP). As amostras de sangue foram incubadas com os anticorpos monoclonais CD-3, CD-4, CD-8, CD-45, CD-19, CD-56+CD16 e imunoglobulinas controles isotípicos negativos, sem reatividade para células hematopoéticas humanas, por 15 minutos em 18 a 22°C e lisadas com FACs Lysing solution. A seguir, foram submetidas à análise no citômetro FACScalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA).

A calibração e a compensação da fluorescência foram realizadas utilizando-se os Calibrite Beads, e o software para análise foi o Multiset (Becton Dickinson, CA). Todos os reagentes utilizados foram fornecidos pela Becton Dickinson, San Jose, CA.

4.4.2 AS VARIÁVEIS INDEPENDENTES

Foram definidas como variáveis independentes:

- Sexo;
- Idade: definida a partir da data do nascimento constante no prontuário e a data do início da quimioterapia
- Sítio do câncer;
- Tipo de câncer (Tabela 2) e estadiamento clínico;
- Cirurgia prévia;
- Presença de metástase;
- Tipo de quimioterapia: definida pelos tipos de quimioterápicos utilizados (Tabela 3), dosagem utilizada aqui classificada em alta dose (ALTA) ou dose convencional (CONV) pela equipe médica responsável, duração do ciclo e do seu propósito (Tabela 4);
- Ciclo no qual foi realizada a contagem da natural killer: definido como ciclo finalizado imediatamente antes da contagem da NK realizada como exame de controle para o próximo ciclo.

Tabela 2. Tipos de neoplasia.

| Abreviatura | Câncer |
|-------------|--|
| AC | Adenocarcinoma |
| ACE | Adenocarcinoma endometrióide |
| ACM | Adenocarcinoma microtubular |
| ACP | Adenocarcinoma papilífero |
| ACS | Adenocarcinoma de sigmóide |
| CA | Carcinoma |
| CBA | Carcinoma broncoalveolar |
| CDI | Carcinoma ductal invasivo |
| CNEPC | Carcinoma neuroendócrino de pequenas células |
| CPU | Carcinoma papilífero urotelial |
| GBM | Glioblastoma multiforme |
| LH | Linfoma de Hodgkin |
| LMS | Leimiosarcoma |
| LNH | Linfoma Não-Hodgkin EIIe |
| SARCO | Sarcoma |

Tabela 3. Tipos de quimioterápicos.

| Abreviatura | Esquema de quimioterapia |
|-------------|---|
| BEP | Bleomicina, Etoposida e Cisplatina |
| CA | Adriamicina (Doxorubicina), Ciclofosfamida |
| CAF | Ciclofosfamida , Adriamicina, Fluorouracil (5-FU) |
| CAV | Ciclofosfamida , Adriamicina, Vincristina |
| CHOP | Ciclofosfamida , Hidroxidoxorubicina (doxorubicina), Vincristina, Prednisona |
| CICLOF | Ciclofosfamida |
| CMF | Ciclofosfamida , Metotrexato , Fluorouracil (5-FU) |
| FEC | Fluorouracil (5-FU), Epirubicina , Ciclofosfamida |
| FOLFOX | Fluorouracil (5-FU), Leucovorin (Ácido folínico), Oxaliplatina |
| GENCI | Gencitabina |
| MELPHA | Melphalan |
| METHO | Methotrexate |
| MVAC | Methotrexate, Vinblastina, Adriamicina e Cisplatina |
| PACLI | Paclitaxel |
| PCV | Procarbazina , Carmustina, Vincristina |
| TEMO | Temozolomida |
| VINO | Vinorelbina |
| ZOLE | Àcido Zoledrônico |

Tabela 4. Propósito da quimioterapia.

| Abreviatura | Propósito |
|-------------|---|
| NEO | Quimioterapia neoadjuvante. Utilizada como a primeira arma terapêutica. Foi aplicada em doentes com tumores de grande extensão, com o objetivo de obter a redução da massa tumoral. |
| ADJ | Quimioterapia adjuvante. Foi administrada depois da remoção cirúrgica, com o objetivo da destruição de micrometástases que poderiam estar presentes. |
| CUR | Quimioterapia curativa. Foi aplicada como recurso terapêutico de primeira linha e considerada como a única arma terapêutica. |
| PAL | Quimioterapia paliativa. Pretendeu aumentar a sobrevida e/ou permitir uma melhor qualidade de vida com alívio dos sintomas. Foi necessária por ter ocorrido disseminação da doença oncológica. |

4.5 SUPLEMENTAÇÃO COM *Agaricus*

Foram estudados os pacientes que fizeram uso da suplementação com o cogumelo *Agaricus* com registro de novo alimento junto ao Ministério da Saúde (registro N° 6.1021.0002.001-7) e adquirido da empresa Cogumelo do Sol[®] Agaricus do Brasil LTDA.

Foi utilizada a dose de 2,8gr diárias de *Agaricus* nas apresentações comerciais em tabletes e/ou suspensão aquosa ou foi utilizada a dose de 400 mL diários do chá obtido da infusão de 24gr de cogumelo seco e moído em 400mL de água quente a 90°C por 15 minutos. As doses diárias foram divididas em 4 tomadas e foram recomendadas pela empresa fabricante baseadas na equivalência em β -(1→3),(1→6)-glucana, contida nos preparados na quantidade estimada de 330mg/dia (Bach, 2006; Bach, 2008; HI et al., 2008).

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das contagens das células NK foram cruzados e comparados entre si e entre os diferentes grupos e apresentados na forma de tabelas e gráficos. As contagens das células NK foram apresentadas em número absoluto e através das médias dos diferentes grupos. A comparação estatística das amostras de cada grupo foi analisada pelo teste-t de Student. Para investigar os possíveis efeitos da suplementação com *Agaricus*, as variáveis foram confrontadas em tabelas de contingência visando obter estatísticas de homogeneidade a partir do método exato de Fischer, finalizando-se com análise de associações através de estatísticas de *Odds-ratios (OR)*.

Os cálculos estatísticos foram realizados com o auxílio do aplicativo BioEstat versão 5.0 (AYRES et al., 2007) sendo considerado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Foram estudados 36 pacientes com diferentes tipos de câncer confirmado por exame histopatológico e com indicação de tratamento quimioterápico, atendidos no ambulatório de oncologia da MCM-SP. Destes, 8 (22,2%) pacientes eram homens e 28 (77,8%) eram mulheres. A idade variou entre 16 e 78 anos com média de 48,75 anos. A paciente de 16 anos foi acompanhada pelos seus representantes legais em todas as fases de orientação e de investigação clínica e laboratorial.

Do total da amostra estudada (N=36), 11 pacientes não realizaram suplementação com *Agaricus* ao iniciarem a quimioterapia e foram considerados no estudo como grupo Controle (Grupo I, N=11). Suas contagens de células NK foram realizadas antes (NK0) e depois da quimioterapia (NK1 sem suplementação) e assim, neste primeiro momento participaram da análise do efeito da quimioterapia sobre o número de NK. Porém, em um segundo momento (após realizarem suas contagens de NK1), estes pacientes, solicitaram a entrada no programa de suplementação com *Agaricus* ainda durante a quimioterapia e realizaram nova contagem de células (NK2) antes do término do tratamento quimioterápico.

Um segundo grupo com 15 pacientes, após realizar a contagem das células NK (NK1), iniciou a terapia adjuvante com *Agaricus* imediatamente antes do início da quimioterapia (Grupo II – *Agaricus*, N=15) e posteriormente, já em quimioterapia, realizou a contagem de controle (NK2).

O restante, isto é, 10 deles, procurou o programa após ter iniciado o seu tratamento quimioterápico e a partir de então realizou a primeira contagem das células NK (NK1), iniciou a suplementação e posteriormente realizou o controle do tratamento com a segunda contagem das células NK (NK2) (Grupo III, N=10). Apesar da igualdade de condição com o segundo momento do grupo controle em relação ao início da suplementação com *Agaricus* (início durante o tratamento quimioterápico), a análise descritiva das variáveis independentes bem como a análise das contagens das células NK destes 10 pacientes (comparando antes e depois da suplementação) foi realizada em separado devido a sua particularidade com relação

ao propósito da indicação da quimioterapia (60% com indicação paliativa contra 18% do grupo controle).

5.1.1 O GRUPO CONTROLE

Dos 11 pacientes do grupo controle, o tipo de câncer mais frequente foi o câncer de mama (7 pacientes) diagnosticado como carcinoma ductal invasivo (CDI), enquanto os 4 outros pacientes apresentaram diferentes tipos de câncer. Quanto ao estadiamento, 7 pacientes apresentavam estágio IV enquanto os outros 4 estágio I. Sete (7) pacientes apresentavam metástase (sendo 2 com múltiplas metástases) enquanto 2 deles somente tumor primário e os outros 2 haviam feito ressecção cirúrgica do tumor primário e não apresentavam metástase (Tabela 5A).

Tabela 5A. Características da neoplasia dos 11 pacientes do grupo controle

| Nº | Pte | | | Características da Neoplasia | | | |
|----|-----|------|------|------------------------------|---------|----------------|--------------------|
| | Id | Sexo | Nome | Sítio 1º | Estádio | Tumor presente | Sítio da Metástase |
| 1 | 32 | F | CDI | Mama | IV | M | Mama oposta |
| 2 | 78 | F | ACE | Útero | IV | M | Fossa ilíaca |
| 3 | 36 | F | CDI | Mama | I | P | Ausente |
| 4 | 40 | F | CDI | Mama | IV | M | Pulmão |
| 5 | 70 | F | GBM | Cérebro | I | A | Ausente |
| 6 | 35 | F | CDI | Mama | I | A | Ausente |
| 7 | 26 | F | CDI | Mama | IV | M | Ossos, cérebro |
| 8 | 32 | M | CBA | Pulmão | I | P | Ausente |
| 9 | 45 | F | CDI | Mama | IV | M | Pulmão e Ossos |
| 10 | 16 | F | LNH | Linfonodos | IV | MP | Mediastino |
| 11 | 45 | F | CDI | Mama | IV | M | Pele local |

Pte: paciente. Id: idade. Sítio 1º: localização do tumor primário. Tumor presente: A (ausência de tumor), P (presença de tumor primário), M (presença somente de metástase, MP (presença de metástase e tumor primário). Abreviaturas dos nomes dos tipos de câncer foram relacionadas na Tabela 2 (pg. 31).

Quanto as características do tratamento quimioterápico do grupo controle, o esquema mais utilizado foi o composto por Ciclofosfamida, Adriamicina (Doxorubicina), Fluorouracil (CAF), administrado em 5 pacientes. Dos onze pacientes, 7 receberam altas dose de quimioterápicos (Tabela 5B).

Tabela 5B. Características do tratamento quimioterápico dos 11 pacientes do grupo controle

| Pte Nº | Propósito | Características da quimioterapia | | | Total de ciclos |
|-----------|-----------|----------------------------------|--------------|------|-----------------|
| | | Esquema | Ciclo (dias) | Dose | |
| 1 | CUR | CAF | 21 | ALTA | 15 |
| 2 | CUR | PACLI | 21 | ALTA | 11 |
| 3 | CUR | CAF | 21 | CONV | 7 |
| 4 | CUR | CAF | 21 | ALTA | 6 |
| 5 | ADJ | PCV+ TEMO | 21 | CONV | 5 |
| 6 | ADJ | CAV | 21 | CONV | 7 |
| 7 | PAL | CMF | 21 | ALTA | 9 |
| 8 | CUR | CAV | 21 | CONV | 7 |
| 9 | PAL | CAF | 21 | ALTA | 14 |
| 10 | CUR | CHOP | 21 | ALTA | 42 |
| 11 | CUR | CAF | 21 | ALTA | 14 |

Pte: paciente. CONV: dose convencional. Demais abreviaturas foram relacionadas na Tabela 3(pg. 32) e Tabela 4 (pg.33).

5.1.2 O GRUPO *Agaricus*

O grupo *Agaricus* foi constituído por 15 pacientes sendo que 8 apresentavam câncer de mama diagnosticado como CDI, enquanto os 7 outros pacientes apresentaram diferentes tipos de câncer. Quanto ao estadiamento, 12 pacientes apresentavam estágio IV enquanto os outros 3 estágio III. Doze (12) pacientes apresentavam metástase (sendo que 4 apresentavam múltiplas metástases) enquanto 1 deles somente tumor primário e os outros 2 haviam feito ressecção cirúrgica do tumor primário e não apresentavam metástase (Tabela 6A).

Tabela 6A. Características da Neoplasia dos 15 pacientes do grupo *Agaricus*

| N° | Pte | | Nome | Características da Neoplasia | | | |
|----|-----|------|--------------|------------------------------|---------|-------------|---------------------------|
| | Id | Sexo | | Sítio 1 ^a | Estádio | Tu presente | Sítio da Metástase |
| 12 | 38 | F | CDI | Mama + gânglios | III | P | Ausente |
| 13 | 44 | M | ACM | Estômago | IV | M | Fígado |
| 14 | 47 | F | CDI | Mama | IV | M | Pulmão e Ossos |
| 15 | 46 | M | CNEPC | Reto | IV | MP | Gânglios supraclav. |
| 16 | 49 | F | LMS | Pulmão | IV | M | Mediastino |
| 17 | 58 | F | CDI | Mama | IV | M | Fígado, Ossos e Pulmão |
| 18 | 35 | F | CDI | Mama | III | A | Ausente |
| 19 | 71 | F | CDI | Mama | IV | M | Fígado e Ossos |
| 20 | 36 | F | CDI | Mama | III | A | Ausente |
| 21 | 43 | M | SARCO | Osso | IV | M | Pulmão |
| 22 | 56 | F | CDI | Mama | IV | M | Pulmão e Fígado |
| 23 | 68 | F | ACE | Ovário | IV | M | Pulmão |
| 24 | 68 | M | CPU | Bexiga | IV | M | Ossos |
| 25 | 42 | F | CDI e ACS | Mama e sigmóide | IV | M | Fígado |
| 26 | 66 | F | CDI | Mama | IV | M | Pulmão |

Pte: paciente. Id: idade. Sítio 1°: localização do tumor primário. Tumor presente: A (ausência de tumor), P (presença de tumor primário), M (presença somente de metástase, MP (presença de metástase e tumor primário). Abreviaturas dos nomes dos tipos de câncer foram relacionadas na Tabela 2 (pg. 31).

Quanto as características do tratamento quimioterápico do grupo *Agaricus*, o esquema mais utilizado foi o composto por Ciclofosfamida, Adriamicina (Doxorubicina), Fluorouracil (CAF), administrado em 6 pacientes. Todos os 15 pacientes receberam altas doses de quimioterápicos (Tabela 6B).

Tabela 6B. Características do tratamento quimioterápico dos 15 pacientes do grupo *Agaricus*

| Pte N° | Propósito | Características da quimioterapia | | | Total de ciclos |
|-----------|-----------|----------------------------------|--------------|------|-----------------|
| | | Esquema | Ciclo (dias) | Dose | |
| 12 | NEO | CAF | 21 | ALTA | 6 |
| 13 | PAL | FEC | 21 | ALTA | 6 |
| 14 | PAL | CAF | 21 | ALTA | 9 |
| 15 | CUR | FOLFOX | 21 | ALTA | 5 |
| 16 | PAL | CAV | 21 | ALTA | 8 |
| 17 | PAL | FEC | 21 | ALTA | 6 |
| 18 | ADJ | CAF | 21 | ALTA | 3 |
| 19 | PAL | CAF | 21 | ALTA | 7 |
| 20 | ADJ | PACLI + CA | 21 | ALTA | 10 |
| 21 | PAL | CICLOF | 14 | ALTA | 5 |
| 22 | CUR | CAV | 21 | ALTA | 8 |
| 23 | CUR | CAV | 21 | ALTA | 6 |
| 24 | PAL | MVAC | 28 | ALTA | 7 |
| 25 | PAL | CAF | 21 | ALTA | 8 |
| 26 | CUR | CAF | 21 | ALTA | 12 |

Pte: paciente. CONV: dose convencional. Demais abreviaturas foram relacionadas na Tabela 3(pg. 32) e Tabela 4 (pg.33).

5.1.3 O GRUPO III

O grupo que iniciou suplementação após ter iniciado a quimioterapia, grupo III (N=10), foi composto por 4 pacientes apresentavam câncer de mama diagnosticado como CDI, enquanto os 6 outros pacientes apresentaram diferentes tipos de câncer. Quanto ao estadiamento, 9 pacientes apresentavam estágio IV enquanto apenas 1 estágio I. Dos 10 pacientes, 9 apresentavam metástase, sendo que 5 apresentavam múltiplas metástases (Tabela 7A).

Tabela 7A. Características da neoplasia dos 10 pacientes do Grupo III

| N° | Pte | | Nome | Características da Neoplasia | | | |
|----|-----|------|------|------------------------------|---------|-------------|-----------------------|
| | Id | Sexo | | Sítio 1 ^a | Estádio | Tu presente | Sítio da Metástase |
| 27 | 34 | F | CDI | Mama | IV | M | Pulmão e Ossos |
| 28 | 46 | F | AC | Endométrio e Ovário | IV | MP | Pulmão |
| 29 | 38 | F | ACP | Ovário | IV | M | Fossa ilíaca e Cúpula |
| 30 | 75 | M | AC | Pâncreas | IV | MP | Gânglios |
| 31 | 67 | F | CDI | Mama | IV | M | Ossos e Cérebro |
| 32 | 61 | M | AC | Estômago | IV | M | Pulmão e Fígado |
| 33 | 56 | F | CA | Fígado | I | P | Ausente |
| 34 | 36 | F | CDI | Mama | IV | M | Ossos |
| 35 | 55 | M | LH | Linfonodos | IV | MP | Pulmão |
| 36 | 65 | F | CDI | Mama | IV | MP | Mama oposta e pele |

Pte: paciente. Id: idade. Sítio 1^o: localização do tumor primário. Tumor presente: A (ausência de tumor), P (presença de tumor primário), M (presença somente de metástase, MP (presença de metástase e tumor primário). Abreviaturas dos nomes dos tipos de câncer foram relacionadas na Tabela 2 (pg. 31).

O tratamento quimioterápico do Grupo III foi bastante variado quanto aos esquemas, porém 7 deles apresentavam em sua composição a Ciclofosfamida e/ou o Fluorouracil. Dos 10 pacientes, 9 receberam altas doses de quimioterápicos (Tabela 7B).

Tabela 7B. Características do tratamento quimioterápico dos 10 pacientes do Grupo III

| Pte Nº | Propósito | Características da quimioterapia | | | Total de ciclos |
|-----------|-----------|----------------------------------|----------------------|------|-----------------|
| | | Esquema | Ciclo (dias) | Dose | |
| 27 | PAL | CMF | 21 | ALTA | 9 |
| 28 | PAL | BEP | 21 | ALTA | 10 |
| 29 | PAL | PACLI + CA | 21 | ALTA | 31 |
| 30 | CUR | GENCI | 07 (21) [#] | ALTA | 5 |
| 31 | PAL | PACLI + PCV | 21 | ALTA | 20 |
| 32 | CUR | ECF | 21 | ALTA | 19 |
| 33 | CUR | ECF | 21 | CONV | 8 |
| 34 | PAL | CAF | 21 | ALTA | 14 |
| 35 | CUR | ZOLE + METHO + MELPHA | 21 | ALTA | 14 |
| 36 | PAL | VINO + FEC | 21 | ALTA | 34 |

Pte: paciente. CONV: dose convencional. Demais abreviaturas foram relacionadas na Tabela 3(pg. 32) e Tabela 4 (pg.33).

[#] Ciclo de sete dias, porém acumulado em 21 dias para efeito de análise.

5.2 IMPACTO DA QUIMIOTERAPIA SOBRE O NÚMERO DE CÉLULAS NK DO GRUPO CONTROLE

A análise das contagens das células NK dos 11 pacientes do grupo controle (Grupo I) evidencia um decréscimo no número de células NK em 10 pacientes após o início da quimioterapia e acréscimo em somente um paciente (Figura 1). Estes 10 pacientes com redução da NK apresentaram uma diminuição em média de 58,5% em relação ao exame anterior a quimioterapia (NK0) com nível de significância encontrado de $p=0,005$ (Tabela 8).

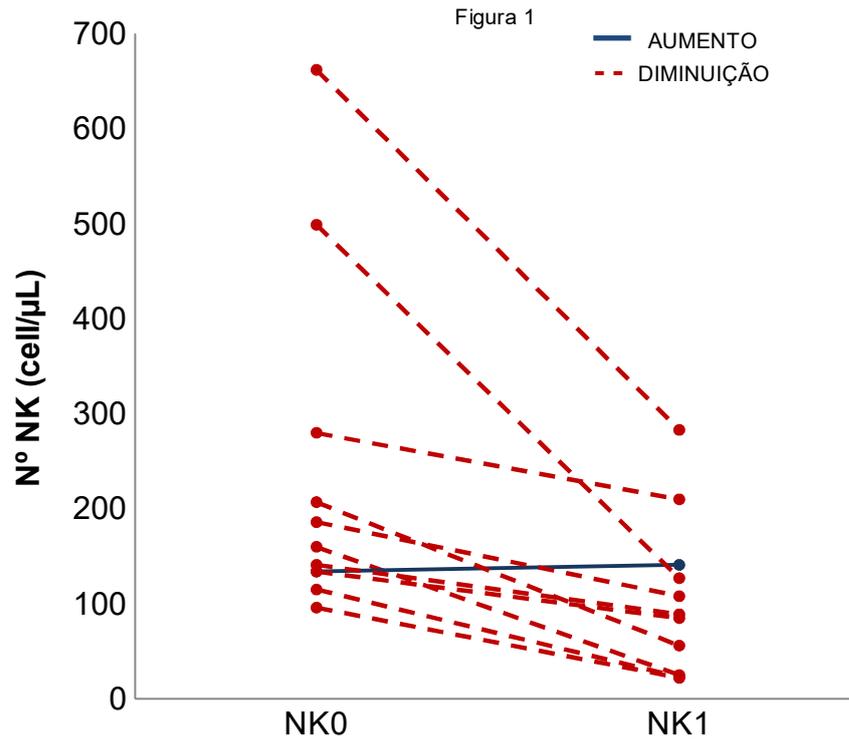


Figura 1. Distribuição e evolução das contagens da NK (em número absoluto) dos pacientes do grupo controle antes e durante a quimioterapia, sem suplementação com *Agaricus*.

Tabela 8. Análise do impacto da quimioterapia sobre o número de células NK dos pacientes do grupo controle (Grupo I).

| | N | Valores da célula NK | | | | Variação NK0→NK1 | p |
|------|----|----------------------|-------|--------|--------|---------------------|-------|
| | | Média | EPM | Mínimo | Máximo | | |
| ↓ NK | | | | | | | |
| NK0 | 10 | 248,00 | 59,06 | 96 | 662 | ↓ 58,5% | 0,005 |
| NK1 | 10 | 102,80 | 27,12 | 22 | 283 | | |
| ↑ NK | | | | | | | |
| NK0 | 1 | 134,00 | --- | --- | --- | ↑ 5,2% | --- |
| NK1 | 1 | 141,00 | --- | --- | --- | | |

p= Teste-t de Student. ↑= aumento. ↓= redução.

O ciclo em que foi realizada a contagem da NK1 variou para cada paciente. Os resultados mostram menores valores da NK1 expressos em porcentagem da linha de base (NK0) quanto mais ciclos foram realizados até o fim do quarto ciclo e apresentando mínima elevação após o sexto ciclo. Dos pacientes que realizaram o controle da NK1 ao final dos ciclos 1 e 2, 83,3% apresentou queda da NK e ao final dos ciclos 3 e 4 e a partir do final do ciclo 5, 100% dos pacientes apresentou queda da contagem de células NK (Figura 2).

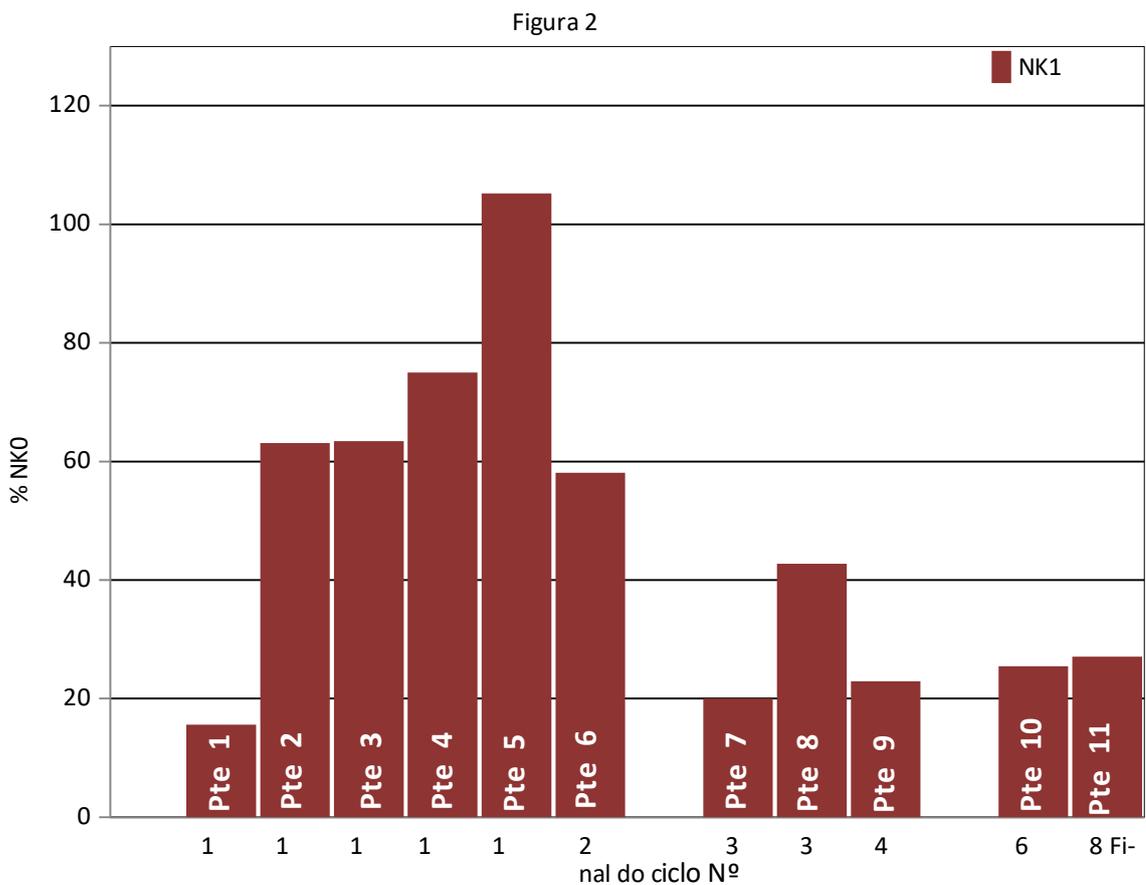


Figura 2. Distribuição dos pacientes do grupo Controle de acordo com o período do tratamento em que foi realizada a contagem da NK1 (com valor expresso em porcentagem da NK0). O período do tratamento foi expresso como “final do ciclo N°”, sendo este o ciclo imediatamente anterior a contagem (realizada no melhor momento de recuperação imediatamente antes do próximo ciclo).

5.3 IMPACTO DA QUIMIOTERAPIA, INICIADA JUNTO COM A TERAPIA ADJUVANTE COM *Agaricus*, SOBRE O NÚMERO DE CÉLULAS NK

A evolução dos 15 pacientes do grupo *Agaricus* (Figura 3), ou seja, suplementados com *Agaricus* no início do tratamento quimioterápico, mostra que 10 pacientes apresentaram aumento das células NK com um acréscimo em média de 35% na NK1 e com significância encontrada de $p= 0,004$ (Tabela 9). Dos 15 pacientes, apenas 5 apresentaram queda das células NK com um decréscimo em média de 38,2% em relação ao exame anterior a quimioterapia (NK1) e com significância encontrada de $p= 0,018$.

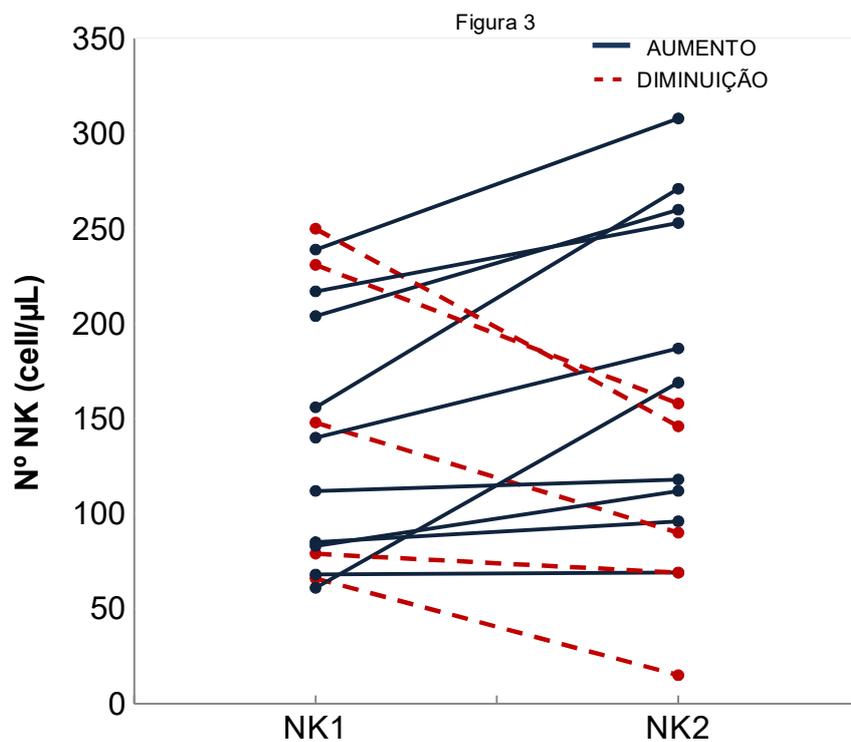


Figura 3. Distribuição e evolução das contagens da NK (em número absoluto) dos pacientes do grupo *Agaricus* antes e durante a quimioterapia.

Tabela 9. Efeito da terapia adjuvante com *Agaricus*, sobre o número de células NK, iniciada junto com a quimioterapia (Grupo *Agaricus*).

| | N | Valores da célula NK | | | | Variação de NK1→NK2 | p |
|------|----|----------------------|-------|--------|--------|------------------------|-------|
| | | Média | EPM | Mínimo | Máximo | | |
| ↓ NK | | | | | | | |
| NK1 | 5 | 154,80 | 37,78 | 66 | 250 | ↓ 38,2% | 0,018 |
| NK2 | 5 | 95,60 | 26,14 | 15 | 158 | | |
| ↑ NK | | | | | | | |
| NK1 | 10 | 136,50 | 20,66 | 61 | 239 | ↑ 35,0% | 0,004 |
| NK2 | 10 | 184,30 | 26,71 | 69 | 308 | | |

p= Teste-t de Student. ↑= aumento. ↓= redução.

Como no grupo controle, o ciclo em que foi realizada a contagem da NK2 variou para cada paciente. Os resultados mostram maiores valores da NK2 expressa em porcentagem da linha de base (% da NK1) em dez pacientes. Em cinco pacientes foram encontrados menores valores. Dos pacientes que realizaram o controle da NK2 ao final dos ciclos 1 e 2, 50% apresentou aumento da NK, ao final dos ciclos 3 e 4, 80% dos pacientes apresentou aumento da NK e a partir do final do quinto ciclo, 66,6% apresentou aumento da NK (Figura 4).

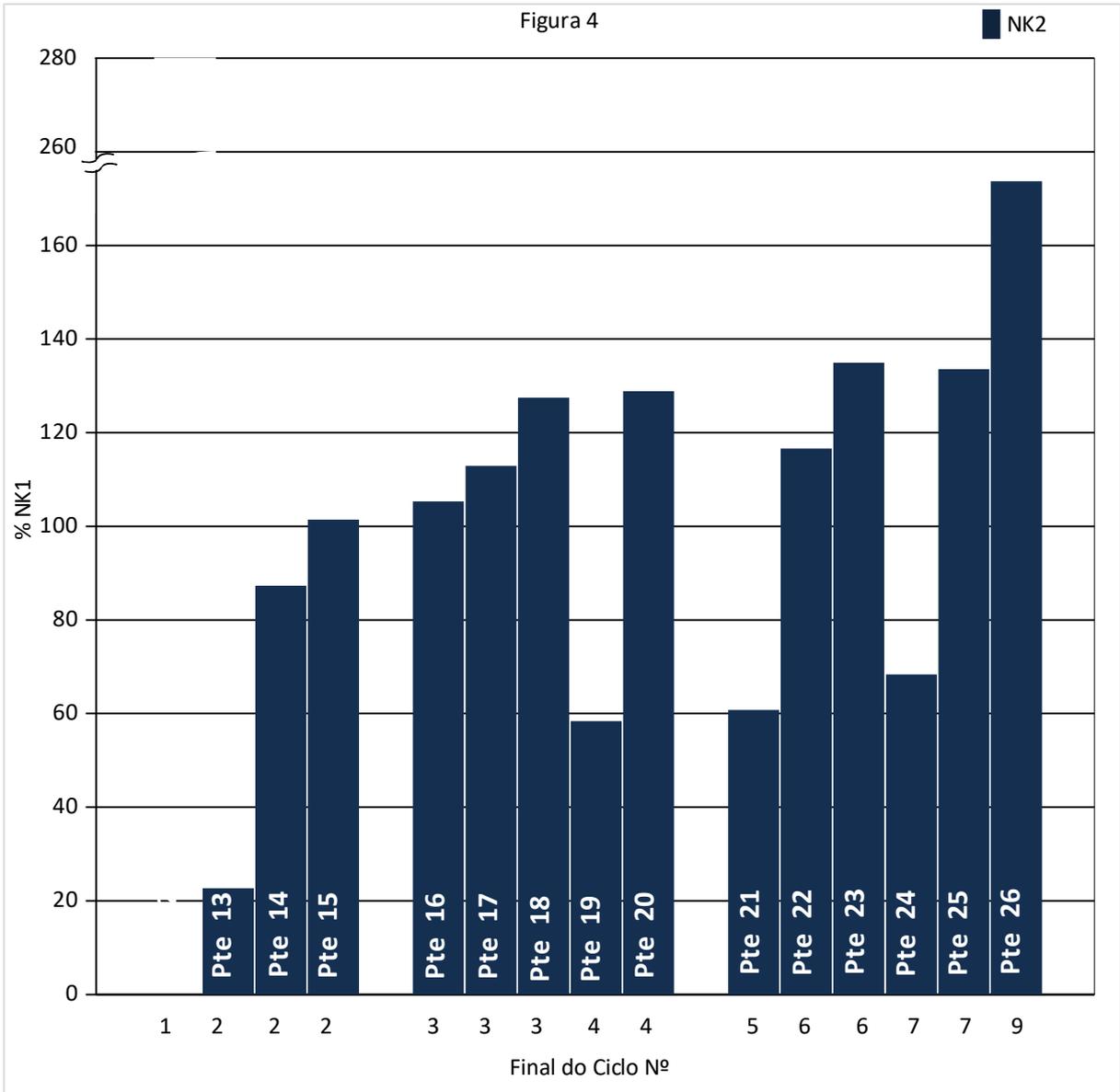


Figura 4. Distribuição dos pacientes do grupo *Agaricus* de acordo com o período do tratamento em que foi realizada a contagem da NK2 (com valor expresso em porcentagem da NK1). O período do tratamento foi expresso como “final do ciclo N”, sendo este o ciclo imediatamente anterior a contagem (realizada no melhor momento de recuperação imediatamente antes do próximo ciclo).

5.4 A EFICÁCIA DA TERAPIA ADJUVANTE COM *Agaricus*. COMPARAÇÃO ENTRE O GRUPO CONTROLE E O GRUPO *Agaricus*

O grupo controle apresentou redução expressiva no número de células NK em 10 (90,9%) dos 11 pacientes após o tratamento com quimioterapia. No entanto, a análise do grupo com suplementação com *Agaricus* mostra que neste grupo houve queda em apenas 5 (33,3%) dos pacientes sendo que em 10 pacientes (66,7%) houve aumento significativo das células NK (Figura 5).

Devido a esta diferença entre os grupos, foi verificada a associação entre a suplementação com *Agaricus* e o número de pacientes que apresentaram queda da NK neste grupo e se obteve $OR=0,05$, mostrando uma forte associação entre o menor número de eventos de queda e a suplementação por *Agaricus*, com significância de $p=0,005$ pelo teste exato de Fisher.

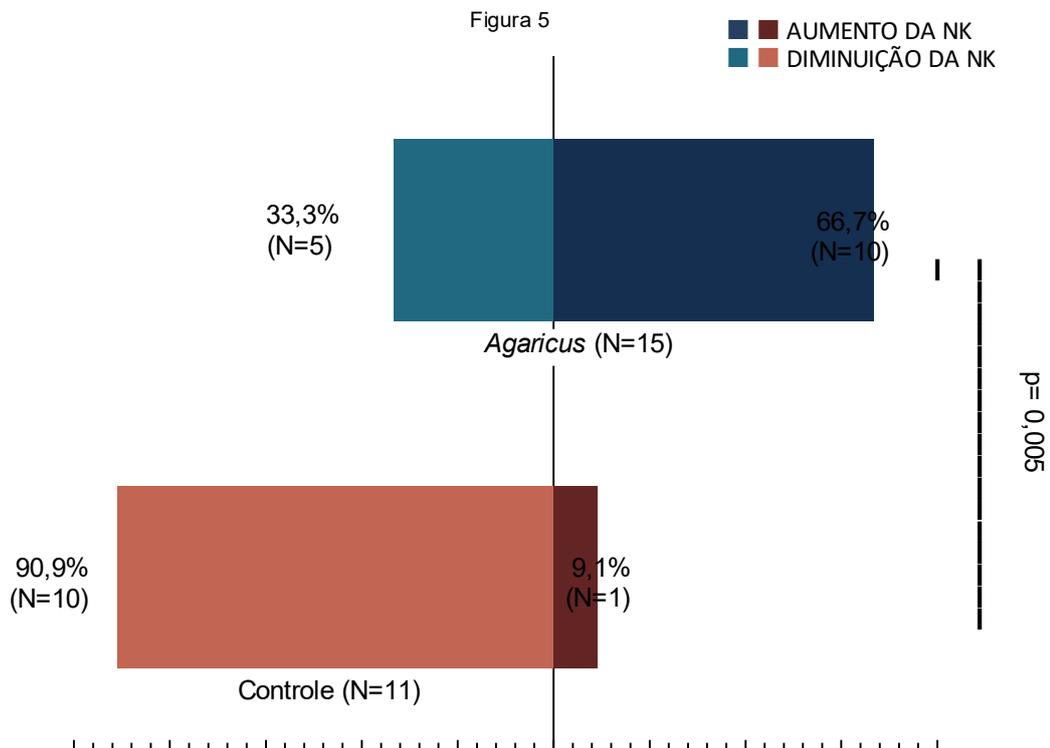


Figura 5. Impacto da terapia adjuvante com *Agaricus* sobre o número de células NK frente ao tratamento quimioterápico: comparação entre o grupo controle e o grupo *Agaricus*. $p=$ teste exato de Fisher.

5.5 COMPARAÇÃO ENTRE AS CÉLULAS NK ANTES DA QUIMIOTERAPIA

Foi realizada a comparação entre os números de células NK encontradas antes da quimioterapia nos 10 pacientes que apresentaram aumento destas células do grupo *Agaricus* e nos pacientes que tiveram diminuição do grupo *Agaricus* e do grupo Controle, porém não houve diferença estatística significativa (Figura 6). Conforme distribuição apresentada na Figura 6, a diferença estatística poderia ser mais insignificante caso não fossem dois pacientes pertencentes ao Controle apresentarem números de NK acima do perfil dos demais pacientes dos dois grupos (662 e 499 células/ μ L).

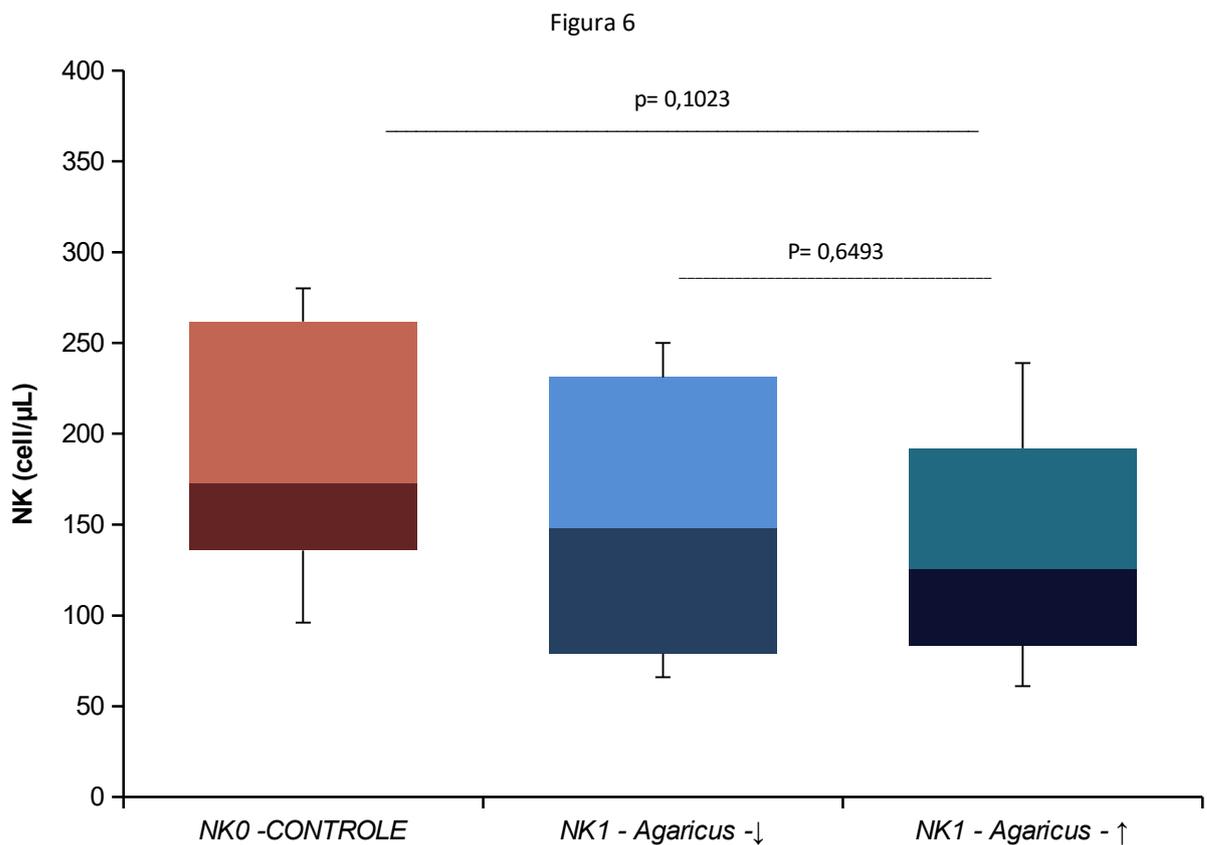


Figura 6. Comparação entre os números de células NK encontradas antes da quimioterapia nos pacientes com aumento (\uparrow) das células NK do grupo *Agaricus*, nos pacientes que tiveram diminuição (\downarrow) das células NK do grupo *Agaricus* e nos pacientes do grupo Controle.

5.6 O EFEITO DA TERAPIA ADJUVANTE COM *Agaricus* INICIADA COM QUIMIOTERAPIA EM ANDAMENTO

5.6.1 O SEGUNDO MOMENTO DO GRUPO CONTROLE – GRUPO IA

Os 11 pacientes do grupo controle após realizarem a sua contagem de células já durante o tratamento quimioterápico passaram a realizar a suplementação com *Agaricus* sendo que 100% dos pacientes apresentou, a partir de então, aumento das células NK (NK2) mesmo ainda em tratamento quimioterápico (evolução e distribuição das contagens na Figura 7).

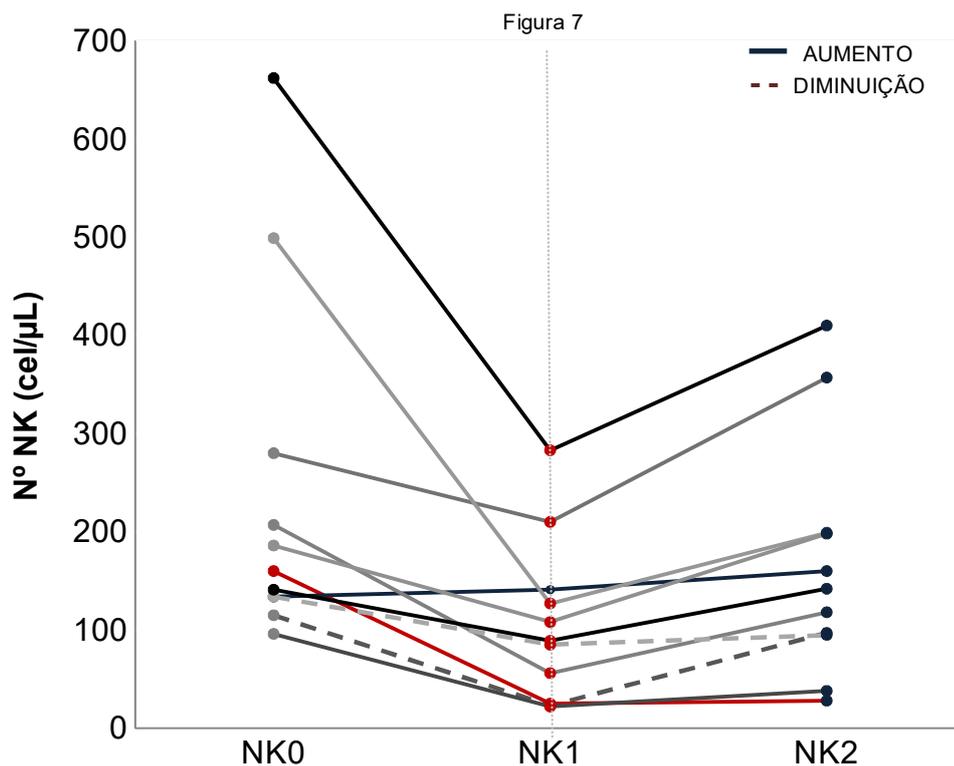


Figura 7. Distribuição e evolução das contagens da NK (em número absoluto) dos pacientes do grupo controle durante a quimioterapia: em seu primeiro momento sem suplementação com *Agaricus* (NK0 → NK1) e em seu segundo momento após a suplementação com *Agaricus* (NK1 → NK2)

A análise dos dados deste grupo (Grupo IA) mostra uma inversão na tendência de queda da NK quanto maior é o número de ciclos de quimioterapia realizados, conforme resultados do primeiro momento do grupo Controle, sendo que o acréscimo na segunda contagem (NK2) apresentado na em 100% dos 11 pacientes foi em média de 57,7% em relação à primeira contagem durante a quimioterapia (NK1) com significância encontrada de $p=0,001$ (Tabela10).

Tabela 10. Efeito da terapia adjuvante com *Agaricus*, sobre o número de células NK, iniciada junto com a quimioterapia (Grupo IA – segundo momento do grupo Controle).

| | N | Valores da célula NK | | | | Variação de NK1→NK2 | p |
|------|----|----------------------|-------|--------|--------|------------------------|-------|
| | | Média | EPM | Mínimo | Máximo | | |
| ↑ NK | | | | | | | |
| NK1 | 11 | 106,27 | 24,78 | 22 | 283 | ↑ 57,5% | 0,001 |
| NK2 | 11 | 167,45 | 36,46 | 28 | 410 | | |

p= Teste-t de Student. ↑= aumento. ↓= redução.

Como no primeiro momento do grupo controle, o ciclo em que foi realizada a contagem da NK2 variou para cada paciente. Os resultados mostram maiores valores da NK2 em relação a NK1 em todos os pacientes. Dos 11 pacientes 36% apresentou NK2 acima da linha de base (Figura 8).

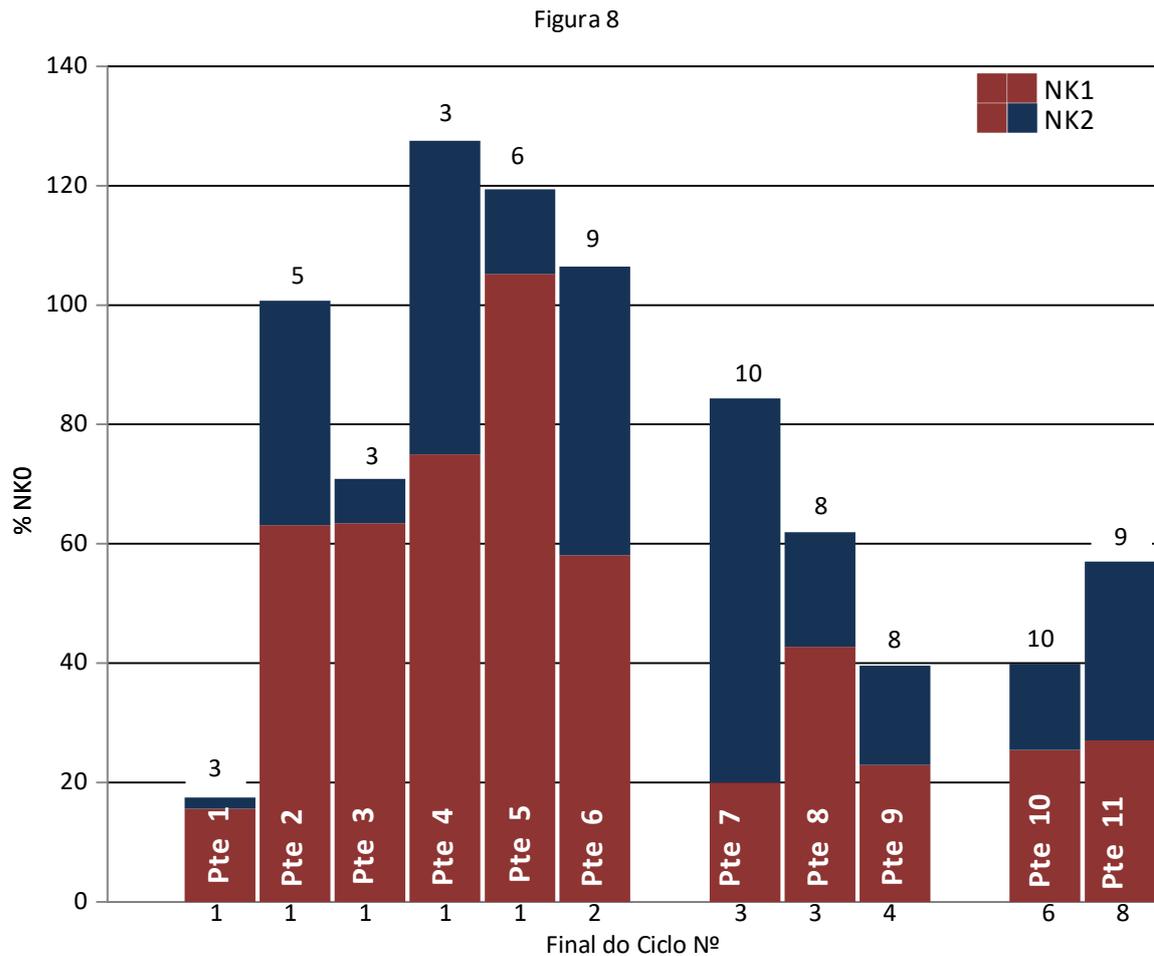


Figura 8. Distribuição dos pacientes do grupo IA de acordo com o ciclo do tratamento em que foi realizada a contagem da NK2 (com valor expresso em porcentagem da NK0) e apresentado acima das barras. O período do tratamento foi expresso como “final do ciclo N^o”, sendo este o ciclo imediatamente anterior a contagem (realizada no melhor momento de recuperação imediatamente antes do próximo ciclo). O número apresentado abaixo das barras significa o número do ciclo após o qual foi realizada a contagem NK1.

5.6.2 O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO NO GRUPO III

Dos 10 pacientes que deram entrada no programa de suplementação com *Agaricus* já sob o efeito da quimioterapia (Grupo III), 8 deles apresentaram aumento do número das células NK enquanto somente 2 apresentaram queda (Figura 9), com um aumento de 57,3% na média de todo o grupo. A análise estatística do grupo como um todo mostra significância encontrada de $p=0,027$ (Tabela 10).

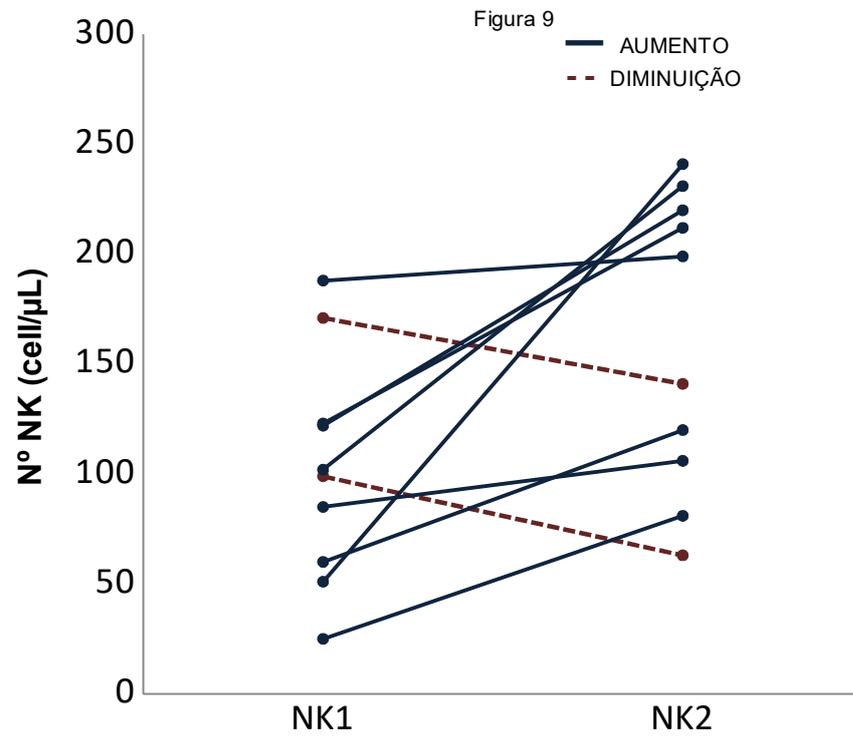


Figura 9. Distribuição e evolução das contagens da NK (expressas em número absoluto) dos pacientes do grupo III durante a quimioterapia sem a suplementação com *Agaricus* (NK1) e depois da suplementação com *Agaricus* (NK2).

Tabela 11. Efeito da terapia adjuvante com *Agaricus* sobre o número das células NK dos 10 pacientes que aderiram à suplementação com tratamento quimioterápico já em andamento (Grupo III).

| | N | Valores da célula NK | | | | Variação NK1 → NK2 | p |
|------------------|----|----------------------|-------|--------|--------|-----------------------|-------|
| | | Média | EPM | Mínimo | Máximo | | |
| Grupo III | | | | | | | |
| NK1 | 10 | 102,60 | 16,18 | 25 | 188 | ↑ 57,3% | 0,027 |
| NK2 | 10 | 161,40 | 21,06 | 63 | 199 | | |
| ↑ NK | | | | | | | |
| NK1 | 8 | 94,50 | 18,11 | 25 | 188 | ↑ 86,5% | 0,005 |
| NK2 | 8 | 176,25 | 22,38 | 81 | 241 | | |
| ↓ NK | | | | | | | |
| NK1 | 2 | 135,00 | 50,91 | 99 | 63 | ↓ 24,4% | 0,057 |
| NK2 | 2 | 102,00 | 55,15 | 171 | 141 | | |

p= Teste-t de Student. ↑= aumento. ↓= redução.

Da mesma forma como nos outros grupos, neste grupo também o ciclo em que foi realizada a contagem da NK2 variou para cada paciente. Os resultados mostram maiores valores da NK2 em relação a NK1 em 8 pacientes e queda somente em dois pacientes (Figura 10).

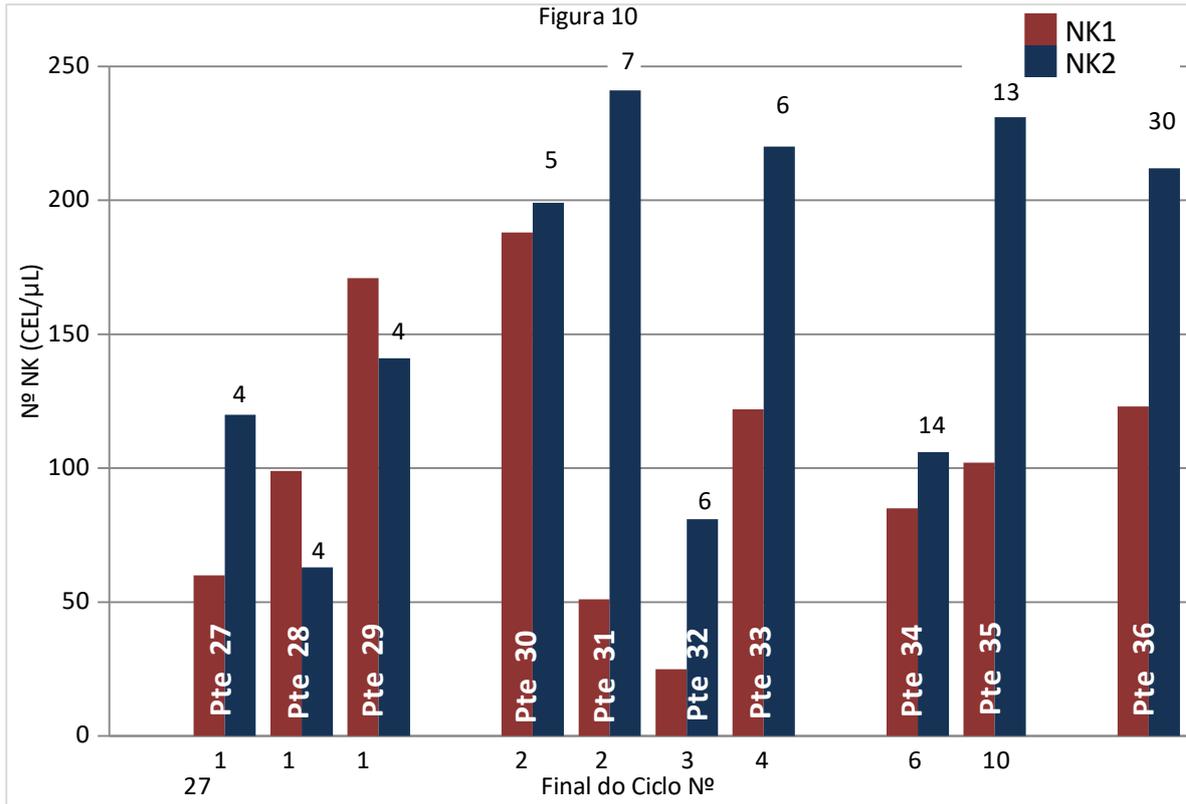


Figura 10. Distribuição dos pacientes do Grupo III de acordo com o período do tratamento em que foi realizada a contagem da NK1 e da NK2 (com valores expressos em número absoluto). O período do tratamento foi expresso como “final do ciclo N^o”, sendo este o ciclo imediatamente anterior a contagem (realizada no melhor momento de recuperação imediatamente antes do próximo ciclo). O número apresentado acima das barras significa o número do ciclo após o qual foi realizada a contagem NK2 e o número abaixo das barras o ciclo da contagem da NK1.

5.7 A EFICÁCIA DA TERAPIA ADJUVANTE COM *Agaricus*: COMPARAÇÃO ENTRE CONTAGENS DE NK EM QT SEM *Agaricus* E CONTAGENS DE NK EM QT COM *Agaricus*.

O efeito da quimioterapia se mostrou diferente entre os grupos. Quando comparadas as contagens das células NK de todos os pacientes que realizaram seus exames em quimioterapia e sem a suplementação com *Agaricus* com as contagens realizadas em quimioterapia com a suplementação com *Agaricus*, notou-se uma diferença significativa nos números absolutos das células NK (Figura 11). As células NK dos pacientes sem *Agaricus*

apresentavam menores valores que as células dos pacientes em suplementação com *Agaricus*. Para esta análise, foram consideradas as contagens realizadas em quimioterapia e sem a suplementação com *Agaricus* (NK-QT= NK1 do grupo Controle e NK1 do Grupo III, N=21), as contagens do grupo *Agaricus* já suplementados durante a quimioterapia (NK2-*Agaricus*= NK2 do grupo *Agaricus*, N=15) e todas as contagens realizadas durante a quimioterapia e já em suplementação (NK-QT+AGA= NK2 do Grupo IA, NK2 do Grupo *Agaricus* e NK2 do Grupo III, N=36)

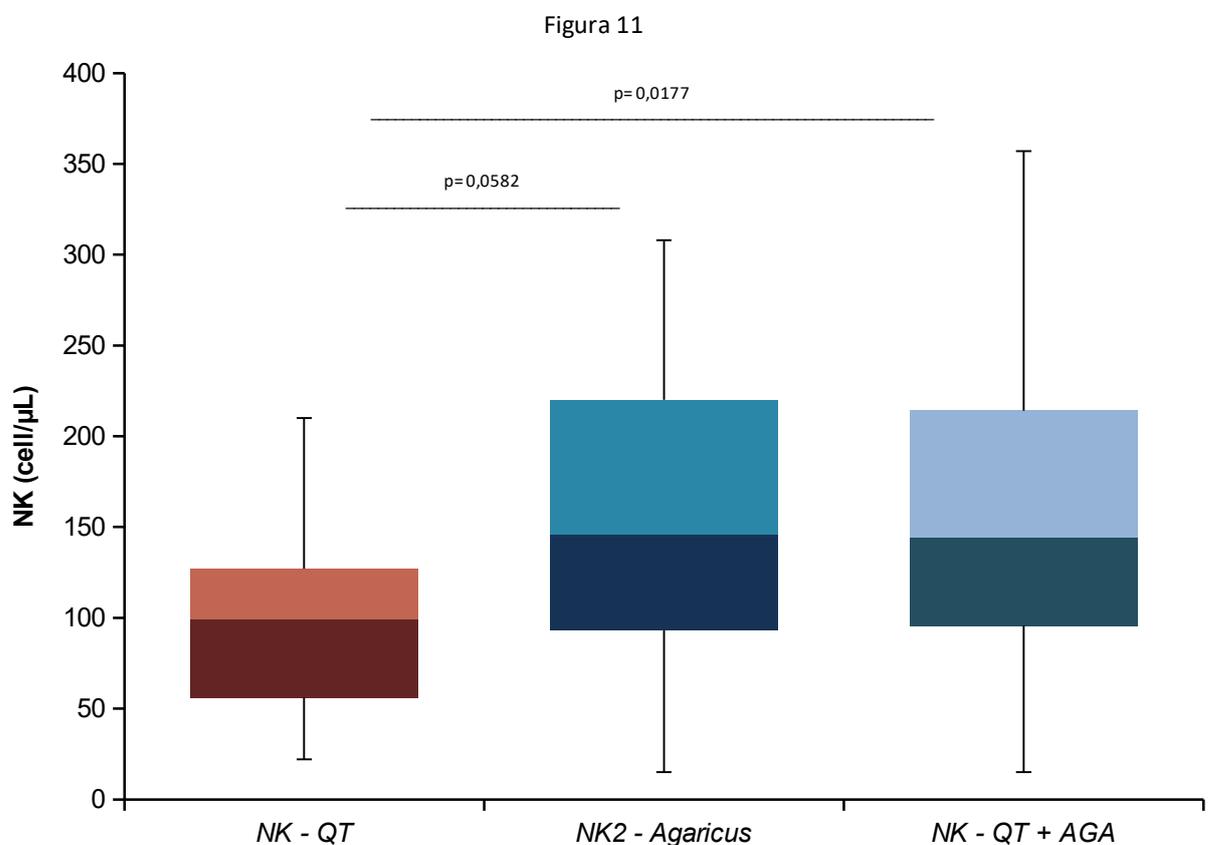


Figura 11. Distribuição das contagens de NK: NK-QT= todas as contagens realizadas durante a quimioterapia dos pacientes sem suplementação com *Agaricus*; NK2- *Agaricus* = contagens dos pacientes do grupo *Agaricus* em quimioterapia e; NK-QT+AGA = todas as contagens de pacientes em quimioterapia e com suplementação com *Agaricus*.

5.8 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES

Quando foi analisada a distribuição das idades dos pacientes do grupo controle que apresentaram queda do número de células NK em comparação com a distribuição da idade dos pacientes do grupo *Agaricus* que apresentaram elevação, verificou-se uma significativa diferença (Figura 12). Não houve diferenças estatísticas entre os grupos em relação as demais variáveis. A forma como foi feita a administração do cogumelo (chá caseiro, suspensão aquosa ou tabletes comerciais) também foi analisada e não mostrou influência sobre os resultados.

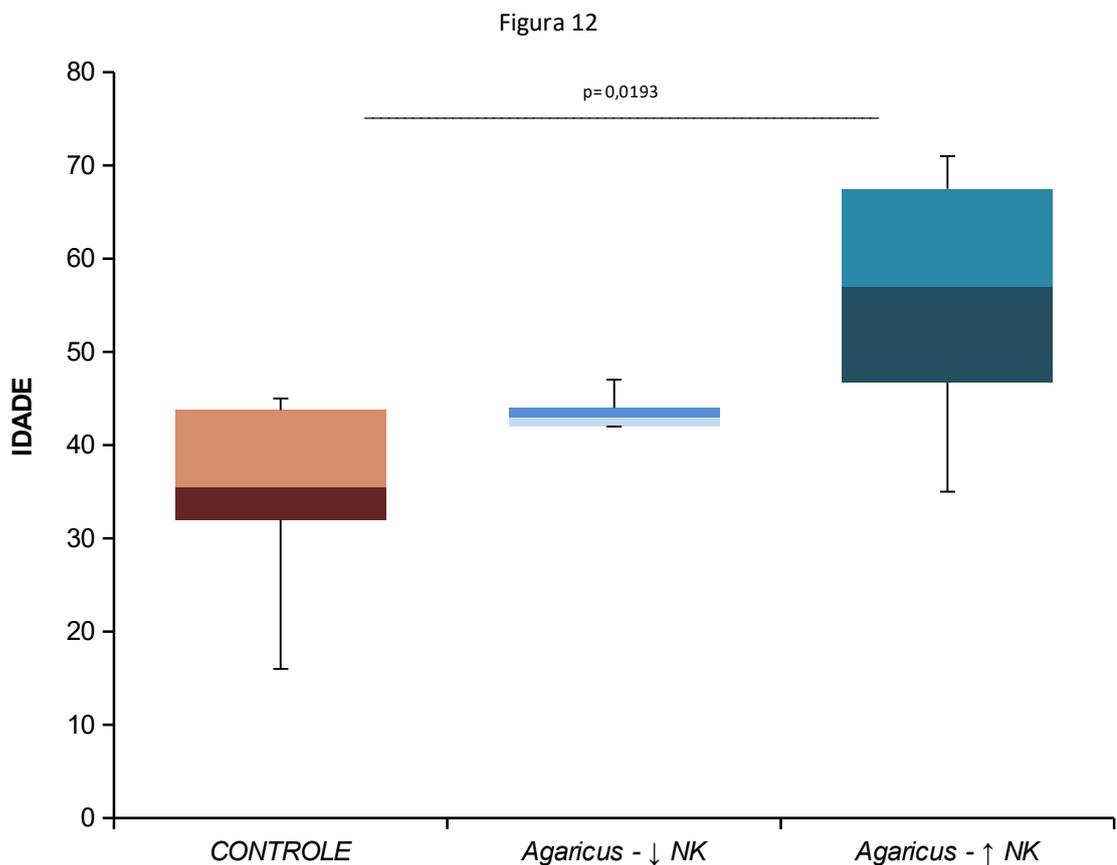


Figura 12. Distribuição das idades dos pacientes do grupo controle que apresentaram queda (↓) do número de células NK e dos pacientes do grupo *Agaricus* que apresentaram queda (↓) e dos que apresentaram aumento (↑).

6. DISCUSSÃO

“Na arte de curar, deixar de aprender é omitir socorro e retardar tratamentos esperando maiores evidências científicas é ser cientista e não MÉDICO”

José de Felipe Junior

Alguns agentes quimioterápicos administrados isoladamente provocam imunossupressão aguda e profunda entre o 7º e 14º dia após o início do tratamento, com possibilidade de recuperação a níveis próximos dos números do pretratamento até o fim do ciclo. No entanto, estudo realizado com o esquema BEP demonstrou significativo decréscimo no sistema imune não só durante o 1º ciclo, mas também ao final do 1º ciclo de tratamento (KUBOTA et al., 2001). Enquanto isso, outros estudos mostraram que doses altas de quimioterápicos, ou esquemas complexos compostos por várias drogas ou ainda tratamentos realizados por longos períodos provocam depleção progressiva, prolongada e profunda nas células da resposta mediada por células, com recuperação a níveis basais podendo demorar meses ou anos e somente após o término do tratamento (LUKOMSKA et al., 1983; MACKAY et al., 1984; MACKALL et al., 1994; MACKALL, 1999; BARRET; LE BLANC, 2009; VEDEL et al., 2009).

Neste estudo, os resultados encontrados no grupo controle confirmam o já demonstrado por outros autores. Mesmo que o seguimento de cada paciente tenha sido realizado com apenas uma contagem de NK após o início do tratamento quimioterápico, o padrão de resposta imunológica parece ser o mesmo dos estudos já publicados, já que os pacientes que tiveram suas medidas realizadas após o ciclo 1 e ciclo 2 apresentaram em média menor queda, expressa em porcentagem dos valores de antes do início do tratamento, do que os pacientes que realizaram as contagens nos ciclos 3 e 4. Já estes, apresentaram queda em média menor do que os que realizaram nos ciclos 6 e 8 como pode ser visto na Figura 3. Em recente estudo com 50 pacientes com câncer de mama em tratamento quimioterápico com o esquema FEC, esquema que também foi utilizado neste trabalho, já havia sido encontrado profunda diminuição das células NK após o tratamento (MOZAFFARI et al., 2007). Estes

achados reforçam a grande necessidade de se encontrar soluções para a proteção da resposta imune, objetivo principal desta pesquisa.

Os efeitos deletérios dos tratamentos quimioterápicos sobre a resposta imune há muito tem sido estudados já que as consequências sobre a condição clínica destes pacientes, como a maior vulnerabilidade a infecções, podem ser desastrosas (HARRIS et al., 1976; MACKALL, 1999). No entanto, drogas quimioterápicas que são destruidoras de células como a NK podem também promover uma maior apresentação dos antígenos tumorais às células do sistema imune (CASARES et al., 2005), o que tem levado os cientistas a descobrir novas combinações de agentes quimioterápicos com regimes de tratamentos imunomoduladores (GAVALAS et al., 2010).

A prevenção da diminuição da resposta imunológica ou a recuperação precoce do sistema imunológico foi relacionada com a maior sobrevivência de pacientes com câncer após o seu tratamento quimioterápico (PORRATA et al., 2002; OKAMOTO et al., 2005). Neste sentido, este estudo pode ter apontado um importante resultado com a verificação do possível efeito imunoestimulante encontrado com a suplementação com o extrato do cogumelo *Agaricus*. Uma das formas de análise deste efeito da suplementação com o cogumelo *Agaricus* foi a verificação dos resultados obtidos pelo grupo de 15 pacientes suplementados ao mesmo tempo em que se iniciou a quimioterapia. Foi encontrada uma redução significativa no risco de se desenvolver queda do número de células NK quando comparado ao grupo controle como exposto na Figura 5. Estudos “in vitro” e “in vivo” em animal já haviam demonstrado a ação de extratos do suplemento alimentar *Agaricus* sobre a resposta imunológica em modelos de câncer, porém poucos estudos tem sido realizados em humanos quando se trata de suplementação nutricional (BORCHERS; KEEN; GERSHWIN, 2004; BORCHERS et al., 2008). Na verdade, alguns medicamentos com princípios ativos retirados de cogumelos semelhantes (SHIMIZU et al., 2009) já são vendidos com indicação imunomoduladora, em especial nos países asiáticos.

Ainda que com a mesma dificuldade de análise pela realização de apenas uma contagem durante o tratamento quimioterápico, o padrão de resposta do grupo *Agaricus* se mostrou bastante diferente do encontrado no grupo Controle como também do padrão encontrado na literatura já apresentada, uma vez que não houve declínio progressivo no número de células NK. Na verdade, foi encontrado um aumento significativo em 10 dos 15 pacientes deste grupo, sendo que dos 4 pacientes que realizaram o controle nos ciclos 1 e 2, 2

deles (50%) apresentaram elevação da NK, dos 5 pacientes que realizaram o controle nos ciclos 3 e 4, 4 deles (80%) apresentaram elevação da NK e o mesmo aconteceu com 4 (66,6%) dos 6 pacientes que realizaram o controle nos ciclos 5 a 9. Nenhum dos estudos apresentados anteriormente mostrou resultados semelhantes com uso isolado de agentes quimioterápicos, o que mais uma vez indica a possibilidade da ação do *Agaricus* como imunostimulante importante neste contexto de saúde.

Um questionamento deste resultado seria a possibilidade das células NK daqueles 10 pacientes do grupo *Agaricus*, que apresentaram aumento durante a quimioterapia, terem iniciado seu tratamento com número de células muito abaixo dos pacientes que apresentaram diminuição das NK deste mesmo grupo e do grupo controle. No entanto, a análise estatística apresentada na Figura 6 não mostra diferenças significativas entre os pacientes do grupo *Agaricus* e quando estes são comparados com os pacientes do grupo Controle. Vale ressaltar que todos os pacientes do grupo *Agaricus* receberam altas doses de quimioterápicos enquanto 40% dos pacientes do grupo Controle receberam doses convencionais, ou seja, menos agressiva ao sistema imune.

Muitos pesquisadores que estudam as mudanças imunológicas com a quimioterapia tem sugerido que o efeito desastroso sobre a resposta imunológica, principalmente quando se trata da depleção dos linfócitos e seus subtipos como a NK, pode ser acompanhado por um efeito benéfico que é o maior reconhecimento dos antígenos tumorais e, em alguns casos até mesmo por uma maior citotoxicidade por parte das células imunes (ZITGOVEL et al., 2008; TSAVARIS et al., 2002). No entanto, há muitos anos estudos já haviam demonstrado uma menor atividade das células NK de pacientes com câncer quando comparado a pacientes saudáveis, resultado provavelmente ligado a malignidade e a progressão da doença que pode se reverter de acordo com uma melhor resposta do paciente durante o curso do seu tratamento (HERSEY et al., 1979; SIBBITT et al., 1984; NÜSSLER et al., 2007). Assim, pode-se levantar o questionamento se estas respostas benéficas dos agentes quimioterápicos não poderiam estar sendo influenciadas por esta destruição tumoral e sua consequente “menor agressividade” sobre o sistema imune, limitando assim esta ação sobre a NK.

Muitos estudos tem demonstrado que este efeito pode ser entendido como um mecanismo de modulação do sistema imunológico. Tsavaris et al. (2002) demonstrou o aumento da citotoxicidade dos linfócitos durante o uso dos agentes Paclitaxel e Docetaxel em pacientes com câncer de mama o que parece embasar ainda mais a teoria da associação entre

quimioterápicos e imunomoduladores (LISETH et al., 2010; BRIGNONE et al., 2010). Porém, outros estudos como um estudo de Cohort com 46 pacientes com diferentes tipos de câncer utilizando o mesmo agente quimioterápico (Docetaxel), no qual foram avaliados vários subtipos de linfócitos antes e depois do tratamento quimioterápico, foi encontrado progressivo e severo declínio do número de linfócitos, inclusive no número de células NK (KOTSAKIS et al., 2000; CARSON et al., 2004), objeto de nosso estudo.

Nota-se então um contraste entre a depleção real no número de células e o aumento da citotoxicidade celular, transformando esta teoria num paradoxo ainda a ser desvendado o que tem servido de motivação para vários pesquisadores que tem estudado a inclusão de agentes imunomoduladores, alguns deles derivados de cogumelos (OHWADA et al., 2004; BORCHERS et al, 2008), ao mesmo tempo em que são administrados os esquemas quimioterápicos (MOTOASHI; NAKAYAMA, 2008; MCCOY; NOWAK; LAKE, 2009; NIZAR et al, 2009; ZITGOVEL; KEPP; KROEMER, 2011).

Outra forma de analisar o efeito da suplementação com *Agaricus* foi a verificação nas mudanças nos números de células NK dos pacientes do grupo Controle após o início da suplementação com *Agaricus* por eles solicitada. Na Figura 7 pode-se verificar que 100% deles apresentou aumento real do número de células após a suplementação e, mais importante, a análise dos dados da Figura 8 mostrou uma mudança no padrão de declínio progressivo apresentado por este mesmo grupo de pacientes antes da suplementação, quando se relaciona a queda em porcentagem do valor inicial (pretratamento) com o número do ciclo no qual foi realizada a contagem de cada paciente. Alguns autores (MACKALL et al., 1994; TOLANEY et al., 2008) já haviam demonstrado declínio expressivo ao final do 3º a 6º ciclo (se mantendo baixo a partir daí, ou com discreta elevação) enquanto, nos resultados aqui apresentados, 3 de 5 pacientes nestas condições apresentaram valores maiores que os iniciais e apenas um se manteve com redução expressiva. Vale ressaltar que o grupo analisado como um todo apresentou aumento significativo em relação a primeira contagem realizada durante a quimioterapia e sem a suplementação com *Agaricus*.

Outro grupo analisado nesta pesquisa foi o grupo formado por pacientes que procuraram o serviço de oncologia, no qual era feito a orientação nutricional aqui estudada, após já terem iniciado a sua quimioterapia. Como a contagem de células NK não faz parte dos protocolos de controle do sistema imunológico, estes pacientes fizeram sua contagem inicial após já estarem sob o efeito do seu tratamento. Como nos outros grupos, o padrão de resposta

se mostrou diferente do apresentado pelo 1º momento do grupo Controle e pelos estudos da literatura já apresentada (KUBOTA et al., 2001; SOLOMAYER et al., 2003; TOLANEY et al., 2008). Dos 6 pacientes que realizaram suas contagens NK2 entre os ciclos 4 e 6 (nos quais era esperado redução acentuada em relação aos níveis de ciclos iniciais – NK1) 4 apresentaram aumento significativo do número de células NK em relação a sua primeira medida, assim como a análise do grupo todo mostrou aumento de 58% em média em relação ao número inicial deste grupo.

A imunossupressão durante os mais diversos tratamentos quimioterápicos já foi bastante discutida por outros pesquisadores como Mackall (1999), conforme já mostrado anteriormente neste trabalho, e foi aqui demonstrada pela análise da evolução do número de células NK do grupo Controle durante seu tratamento quimioterápico. O potencial efeito imunoestimulante da suplementação com *Agaricus*, demonstrado pelos resultados anteriormente discutidos, parece ser reforçado com a análise entre grupos. Através da realização de um perfil dos resultados das contagens das células NK realizadas durante a quimioterapia com e sem a suplementação por *Agaricus*, foram encontrados valores significativamente maiores nas contagens realizadas com a suplementação por *Agaricus* conforme mostrados na Figura 11 e expressos em número absoluto de células.

Variáveis como o tipo de câncer (maioria com câncer de mama), propósito da indicação quimioterápica (16 pacientes com indicação paliativa), presença ou não de metástases, a aplicação de altas doses de quimioterápicos (apenas 5 pacientes receberam doses convencionais), o prolongado tempo de tratamento (apenas 1 paciente se tratou com menos de 5 ciclos) e a presença ou não de metástase (28 pacientes apresentavam pelo menos uma metástase) variaram de grupo para grupo, porém não provocaram diferenças estatísticas na comparação dos resultados. Resultados semelhantes já haviam sido encontrados pela maioria dos autores citados em nossa literatura como por Kang et al. (2009). O tipo de esquema de quimioterapia utilizada também foi analisado e também não mostrou influência nos resultados. No entanto, estes achados reforçam um perfil de pacientes com câncer avançado e de difícil prognóstico para todos os grupos.

De todas as variáveis independentes analisadas nesta pesquisa, apenas o fator idade parece ter se mostrado diferente quando cruzadas as idades entre os grupos. É sabido que as células T e as células B são particularmente susceptíveis ao processo de envelhecimento tanto quanto as células NK e outros componentes da imunidade inata, os quais representam um

importante papel na resistência contra o câncer. Durante o processo de envelhecimento, a habilidade em responder favoravelmente contra patógenos e também contra o câncer vai verdadeiramente sendo reduzida, pior a resposta imune quanto maior for a idade, por uma disfunção fisiológica na imunidade, um estado conhecido como imunossenescência (LINTON; THOMAN, 2001; ROMANYUKHA; YASHIN, 2003; LAZUARDI et al., 2005).

A imunossenescência é caracterizada, ente outros achados, por uma baixa do número de linfócitos no sangue periférico comprometendo a habilidade em responder a exposição persistente a infecções e outros antígenos como os do câncer, ao mesmo tempo que também pode levar a uma resposta mais desfavorável a tratamentos imunossupressores como a radioterapia e a quimioterapia (PAWELEC et al., 1998; HAKIM et al., 2004; CROUGH et al., 2004; MACCORMICK, 2006; DERHOVANESSIAN et al., 2008).

Os resultados apresentados na Figura 12 desta pesquisa mostram significativa diferença na maior idade dos pacientes do grupo *Agaricus* que apresentaram acréscimo das células NK quando comparada a idade dos pacientes do grupo controle que apresentaram decréscimo das células NK após a quimioterapia, contrastando com a literatura apresentada que coloca a maior idade como fator negativo para a resposta imunológica. Nos resultados apresentados nas tabelas 5A, 5B, 6A e 6B percebe-se que o perfil destes pacientes do grupo *Agaricus* se assemelha ao perfil do grupo controle sendo que 100% deles se apresentavam em estágio III ou IV da doença (contra 70% do grupo Controle), 90% com metástase (70% no grupo Controle) e 80% deles se submeteram a altas dose de quimioterápicos (70% no grupo Controle).

Ao mesmo tempo em que acontece o decréscimo em número de células, vários autores mostram que a citotoxicidade da célula NK pode aumentar com o envelhecimento conforme ilustrado por Solana, Pawelec e Tarazona (2006), aqui apresentado na Figura 13, o que nos sinaliza para um grande benefício a possibilidade de se manter elevado o número de NK com tratamentos imunomoduladores durante o tratamento quimioterápico de pacientes com maior idade.

Figura 13

| Neutrophil | Macrophage | Dendritic cell | NK cell |
|--|---|--|--|
|  |  |  |  |
| Preserved Number Phagocytosis TLR2, TLR4 expression GM-CSFR expression | Number | Antigen presentation (decreased in frail elderly) | Overall cytotoxicity (decreased in frail elderly) CD16-mediated cytotoxicity |
| Reduced Superoxide production Chemotaxis Apoptosis Signal transduction Molecule recruitment into lipid rafts | Phagocytosis Superoxide production Chemotaxis Apoptosis TLR expression (?) Signal transduction Cytokine production MHC class II expression | Number of Langerhans cells Langerhans cell migration | Per cell cytotoxicity Signal transduction Response to cytokines Cytokine production |
| Increased | PGE2 production | | Number of CD16 ⁺ CD56 ^{dim} (decreased in frail elderly) |

Figura 13. Efeitos da idade nos componentes celulares da imunidade inata. Fonte: retirado de SOLANA; PAWELEC; TARAZONA, 2006, página 492.

7. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

O efeito deletério dos tratamentos contra o câncer, em especial a depleção sobre as células do sistema imunológico pelos tratamentos como a radioterapia e a quimioterapia, há muito tempo vem sendo exaustivamente estudado (MITCHELL; DECONTI, 1970; KALDOR et al., 1990, MACKALL et al., 1994; ZITGOVEL; KEPP; KROEMER, 2011). No entanto, o grande momento da ciência nas pesquisas que envolvem o sistema imunológico e o câncer parece estar pautado na descoberta de prováveis imunomoduladores que possam ser administrados em conjunto com os mais diversos tipos de tratamentos quimioterápicos (TAHIR et al, 2001; RECCHIA et al., 2008; DE LA CRUZ-MERINO et al., 2008; MCCOY; NOWAK; LAKE, 2009; KITAYAMA et al., 2010; BRIGNONE et al., 2010; RECHHIA et al, 2010), se não para evitar a imunossupressão, ao menos para diminuir sua intensidade. É fato que o efeito benéfico desta menor imunossupressão ou de uma melhor recuperação deste efeito colateral é uma melhor resposta do paciente com um melhor prognóstico (OKAMOTO et al., 2005; RECHHIA et al., 2008; RECCHIA et al., 2010).

Nos resultados apresentados neste estudo ficou evidenciado um aumento do número de células NK relacionado com a terapia adjuvante pela suplementação com o cogumelo *Agaricus* e acreditamos que esta terapia seja promissora no tratamento do câncer através da imunoestimulação. No entanto, considerando a complexidade da resposta imunológica, sugere-se a realização de novas pesquisas randomizadas e com coletas de amostras sanguíneas realizadas a cada ciclo de quimioterapia a fim de corroborar com estes resultados.

Como o objetivo deste estudo focou apenas a análise do número de células NK, sugere-se que novas pesquisas verifiquem o envolvimento de outros subtipos de linfócitos. As células NK são responsáveis por respostas imunes inatas e também adquiridas contra células neoplásicas, porém seu papel contra tumores acontece em conjunto com outras ações do sistema imune, ações conjuntas estas que interferem em sua própria ação e também na ação concomitante com outros linfócitos como as células CD4 e CD8. Apesar dos linfócitos CD4 não possuírem ação direta contra células tumorais, agem secretando citocinas que ativam e estimulam as células citotóxicas como as CD8, porém de forma modulatória.

Durante os últimos anos, a interação entre as células T e as células B tem sido alvo de estudo por ser um mecanismo importante na proteção do organismo contra as células

neoplásicas. As evidências epidemiológicas verificadas mostram o papel fundamental da resposta imune proporcionando diminuição do risco ao câncer e melhora da resposta individual do paciente com câncer. Assim, investigações que associam o comportamento da resposta imunológica destes pacientes podem trazer grandes avanços não só na prevenção, mas como no próprio tratamento do câncer.

Neste estudo, foram analisados 243 prontuários de pacientes com câncer e em suplementação com *Agaricus*. Foi verificado que 150 deles continham registros de exames imunológicos com contagens de linfócitos totais, linfócitos T e B, células CD4 e CD8, além das células NK escolhidas preliminarmente para serem analisadas, inclusive os 36 pacientes aqui estudados. Também ficou evidenciado que a suplementação com *Agaricus* se mostrou uma estratégia barata e fácil de ser realizada, podendo ser introduzida facilmente em ações maiores quando se trata de saúde pública e possível de ser realizada ao mesmo tempo em que são administrados os tratamentos convencionais como a quimioterapia.

Fica, portanto, a sugestão para que se complete a coleta de dados destes prontuários, agora verificando o registro completo do sistema imunológico, bem como a perspectiva de vida dos pacientes. Assim, será possível realizar uma melhor análise dos efeitos da suplementação do cogumelo *Agaricus* como terapia adjuvante, oferecendo mais dados para o embasamento de um projeto maior envolvendo um maior número de pacientes e possibilitando uma maior precisão na análise dos resultados com um menor custo de execução.

REFERÊNCIAS

ABIFISA. Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde. **Uma legislação justa para os produtos de origem natural**. Disponível em: <<http://www.abifisa.org.br/introducao.asp>>. Acesso em: 16/10/2008.

ALMEIDA-OLIVEIRA, A.; DIAMOND, H.R. Antileukemic Activity of Natural Killer (NK) Cells. **Revi Bras Cancerol**, v. 54, n. 3, p. 297-305, 2008.

AL-SARRAF, M.; WONG, P.; SARDESAI, S.; VAITKEVICIUS, V.K. Clinical Immunologic Responsiveness in Malignant Disease. I. Delayed Hypersensitivity Reaction and the Effect of Cytotoxic Drugs. **Cancer**, v. 26, n. 2, p. 262-268, 1970.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S.D. BioEstat 5.0: statistical applications in the areas of biological and medical sciences (Portuguese). **CNPq**, v. 339, 2007.

BEREZHNYAYA, N.M. Interaction between tumor and immune system: the role of tumor cell biology. **Exp Oncol**, v. 32, n. 3, p. 159–166, 2010.

BACH, E. E. Características de polissacarídeos extraídos de *Agaricus* no Brasil. Anais do III Simpósio internacional sobre cogumelos no Brasil e do II Simpósio nacional sobre cogumelos comestíveis. Brasília, DF: EMBRAPA Recursos genéticos e biotecnologia, 2006, p. 82-86.

BACH, E. E. Extração do Princípio Ativo de *Agaricus blazei*. Anais do III Simpósio internacional sobre cogumelos no Brasil e do II Simpósio nacional sobre cogumelos comestíveis. Brasília, DF: EMBRAPA Recursos genéticos e biotecnologia, 2008, p. 91-98.

BARRETT, J.; LE BLANC, K. Cancer Chemotherapy and Immune Regulation. **Am J Immunol**; v. 5, p. 8-16, 2009.

BATTLE, J.; HA, T.; LI, C.; DELLA BEFFA, V.; RICE, P.; KALBFLEISCH, J.; BROWDER, W.; WILLIAMS, D. Ligand binding to the (1-->3)-beta-D-glucan receptor stimulates NFkappaB activation, but not apoptosis in U937 cells. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 249, p. 499-504, 1998.

BEUTLER, B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. **Nature**, v. 430, n. 6996, p. 257-263, 2004.

BORCHERS, A.T.; KEEN, C.L.; GERSHWIN, M.E. Mushrooms, tumors, and immunity: an update. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 229, n. 5, p. 393-406, 2004.

BORCHERS, A.T.; KRISHNAMURTHY, A.; KEEN, C.L.; MEYERS, F.J.; GERSHWIN, M.E. The immunobiology of mushrooms. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 233, n. 3, p. 259-276, 2008.

BRIGNONE, C.; GUTIERREZ, M.; MEFTI, F.; BRAIN, E.; JARCAU, R.; CVITKOVIC, F.; BOUSETTA, N.; MEDIONI, J.; GLIGOROV, J.; GRYGAR, C.; MARCU, M.; TRIEBEL, F. First-line chemoimmunotherapy in metastatic breast carcinoma: combination of paclitaxel and IMP321 (LAG-3Ig) enhances immune responses and antitumor activity. **J Transl Med**. v. 8, n. 71, 2010

BRITO, C.; PORTELA, M.C.; VASCONCELLOS, M.T.L. Assistência oncológica pelo SUS a mulheres com câncer de mama no Estado do Rio de Janeiro. **Rev. Saúde Pública**; v.39, n.6, P. 874-881, 2005.

BROWN, G.D.; GORDON, S. Fungal beta-glucans and mammalian immunity. **Immunity**; v. 19, n. 3, p. 311-315, 2003.

CARSON, W.E. 3RD, SHAPIRO, C.L.; CRESPI, T.R.; THORNTON, L.M.; ANDERSEN, B.L. Cellular immunity in breast cancer patients completing taxane treatment. **Clin Cancer Res**, v. 10, n. 10, p. 3401-3409, 2004

CASARES, N.; PEQUIGNOT, M.O.; TESNIERE, A.; GHIRINGHELLI, F.; ROUX, S.; CHAPUT, N.; SCHMITT, E.; HAMAI, A.; HERVAS-STUBBS, S.; OBEID, M.; COUTANT, F.; MÉTIVIER, D.; PICHARD, E.; AUCOUTURIER, P.; PIERRON, G.; GARRIDO, C.; ZITVOGEL, L.; KROEMER, G. Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death. **J Exp Med**, v. 202, n. 12, p. 1691-701, 2005.

CHAN, G.C.F.; CHAN, W.K.; SZE, D.M.S. The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. **J Hematol Oncol**, v. 2, n.25, 2009.

COSISKI MARANA, H.R.; SILVA, J.S.; ANDRADE, J.M. NK cell activity in the presence of IL-12 is a prognostic assay to neoadjuvant chemotherapy in cervical cancer. **Gynecol Oncol**, v. 78, n. 3 Pt 1, p. 318-323, 2000.

CROUGH, T.; PURDIE, D.M.; OKAI, M.; MAKSOUD, M.; NIEDA, M.; NICOL, A.J. Modulation of human $V\alpha 24^+ V\beta 11^+$ NKT cells by age, malignancy and conventional anticancer therapies. **Br J Cancer**, v. 91, n. 11, p. 1880-1886, 2004.

DE FELIPPE Jr. J. et al. Infection prevention in patients with severe multiple trauma with the immunomodulator beta 1-3 polyglucose (glucan). **Surg Gynecol Obstet**, v. 177, n. 4, p. 383-388, 1993.

DE LA CRUZ-MERINO, L.; GRANDE-PULIDO, E.; ALBERO-TAMARIT, A.; CODESMANUEL DE VILLENA, M.E. Cancer and immune response: old and new evidence for future challenges. **Oncologist**, v. 13, n. 12, p. 1246-1254, 2008.

DERHOVANESSIAN, E.; SOLANA, R.; LARBI, A.; PAWELEC, G. Immunity, ageing and cancer. **Immun Ageing**, v. 5, n.11, 2008.

EDWARDS, E.A.; DEAN L.M. Effects of crowding of mice on humoral antibody formation and protection to lethal antigenic challenge. **Psychosom Med**, v. 39, n. 1, p. 19-24, 1977.

FERREIRA, S.H. **Medicamentos a partir de Plantas Mediciniais no Brasil**. Academia Brasileira de Ciências, 1998. Disponível em: <http://ftp.abc.org.br/arquivos/medicamentos.pdf>. Acesso em 13/Fev/2011.

FUJIMIYA, Y.; SUZUKI, Y.; OSHIMAN, K.; KOBORI, H.; MORIGUCHI, K.; NAKASHIMA, H.; MATUMOTO, Y.; TAKAHARA, S.; EBINA, T.; KATAKURA, R. Selective tumoricidal effect of soluble proteoglycan extracted from the basidiomycete, *Agaricus blazei Murill*, mediated via natural killer cell activation and apoptosis. **Cancer Immunol Immunother**, v. 46, n. 3, p. 147-159, 1998.

FUJIMIYA, Y.; SUZUKI, Y.; KATAKURA, R.; EBINA, T. Tumor-specific cytotoxic and immunopotentiating effects of relatively low molecular weight products derived from basidiomycete, *Agaricus blazei Murill*. **Anticancer Res**, v. 19, n. 1, p. 113-118, 1999.

FURLANI, R.P.Z.; GODOY, H.T., Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciência Tecnol Aliment**, v. 27, n. 1, p. 154-157, 2007.

GAVALAS, N.G.; KARADIMOU, A.; DIMOPOULOS, M.A.; BAMIAS, A. Immune Response in Ovarian Cancer: How Is the Immune System Involved in Prognosis and Therapy: Potential for Treatment Utilization. **Clin Dev Immunol**, v. 2010, n. 791603, 2010.

GHONEUM, M.; ASSANAH, P.; STEVENS, W. Susceptibility of natural killer cell activity of old rats to stress. **Immunology**, v. 60, n. 3, p. 461-465, 1987.

GOLDSBY, R.A.; KINDT, T.J.; OSBORNE, B.A. **Kuby imunologia** . 4.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000. 662 p.

GORDON, M.; BIHARI, B.; GOOSBY, E.; GORTER, R.; GRECO, M.; GURALNIK, M.; MIMURA, T.; RUDINICKI, V.; WONG, R.; KANEKO, Y. A placebo-controlled trial of the immune modulator, lentinan, in HIV-positive patients: a phase I/II trial. **J Med**, v. 29, n. 5-6, p. 305-330, 1998.

GUI, X.E.; RINALDO, C.R. JR.; HO, M. Natural killer cell activity in renal transplant recipients receiving cyclosporine. **Infect Immun**, v. 41, n. 3, p. 965-970, 1983.

HAKIM, F.T.; FLOMERFELT, F.A.; BOYIADZIS, M.; GRESS, R.E. Aging, immunity and cancer. **Curr Opin Immuno**, v. 16, n. 2, p. 151-156, 2004.

HARRIS, J.; SENGAR, D.; STEWART, T.; HYSLOP, D. The effect of immunosuppressive chemotherapy on immune function in patients with malignant disease. **Cancer**, v. 37, p. 1058-1069, 1976.

HERSEY, P.; EDWARDS, A.; HONEYMAN, M.; MCCARTHY, W.H. Low natural-killer-cell activity in familial melanoma patients and their relatives. **Br J Cancer**, v. 40, n. 1, p. 113-122, 1979.

HI, E.M.B.; AZEVEDO M.R.A.; BACH, E.E.; OGATA T.R.P. Efeito protetor do extrato de *Agaricus sylvaticus* em fígado de ratos do tipo Wistar inoculado com pristina. **Saúde Coletiva**, v. 05, p. 76-79, 2008.

HOBBS, C. Medicinal value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Agaricomycetidae). A literature review. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 2, p. 287-302, 2000.

HOFER, E.; SOBANOV, Y.; BROSTJAN, C.; LEHRACH, H.; DÜCHLER, M. The centromeric part of the (NK) receptor complex: lectin-like receptor genes expressed in NK, dendritic and endothelial cells. **Immunol Rev**, v. 181, p. 5-19 2001.

IMAI, K.; MATSUYAMA, S.; MIYAKE, M.; SUGA, K.; NAKACHI, K. Natural cytotoxic activity of peripheral-blood lymphocytes and cancer incidence: an 11-year follow up study of a general population. **The Lancet**, v. 356, n. 9244, p. 1795-1799, 2000.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA) / MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS)/BRASIL. **Estimativa/2010 – Incidência de Cancer no Brasil**. Rio de Janeiro, Brazil: INCA 2009.

JANEWAY, C.A. Jr. The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self. **Immunol Today**, v. 13, n. 1, p. 11-16, 1992.

KALDOR, J.M.; DAY, N.E.; PETERSSON, F.; CLARKE, E.A.; PEDERSEN, D.; MEHNERT, W.; BELL, J.; HØST, H.; PRIOR, P.; KARJALAINEN, S.; NEAL, F.; KOCH, M.; BAND, P.; CHOI, W.; KIRN, V.P.; ARSLAN, A.; ZARÉN, B.; BELCH, A.R.; STORM, H.; KITTELMANN, B.; FRASER, P.; STOVALL, M. Leukemia following chemotherapy for ovarian cancer. **N Engl J Med**, v. 322, n. 1, p. 1-6, 1990.

KANENO, R.; FONTANARI, L.M.; SANTOS, S.A.; DI STASI, L.C.; RODRIGUES FILHO, E.; EIRA, A.F. Effects of extracts from Brazilian Sun-mushroom (*Agaricus blazei*) on the NK activity and lymphoproliferative responsiveness of Ehrlich tumor-bearing mice. **Food Chem Toxicol**, v. 42, n. 6, p. 909-916, 2004.

KANG, D.H.; WEAVER, M.T.; PARK, N.J.; SMITH, B.; MCARDLE, T.; CARPENTER, J. Significant Impairment in Immune Recovery Following Cancer Treatment. **Nurs Res**, v. 58, n. 2, p. 105-114, 2009.

KERRIGAN, R. *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom, and its synonyms. **Mycologia**, v. 97, n. 1, p. 12-24, 2005.

KIMURA, Y.; KIDO, T.; TAKAKU, T.; SUMIYOSHI, M.; BABA, K. Isolation of anti-angiogenic substances from *Agaricus blazei* Murill: Its Antitumor and antimetastatic actions. **Cancer Sci**, v. 95, n. 9, p. 758-764, 2004.

KIMURA, Y.; TOJIMA, H.; FUKASE, S.; TAKEDA, K. Clinical evaluation of sizofiran as assistant immunotherapy in treatment of head and neck cancer. **Acta Otolaryngology**, v. 511, p. 192-195, 1994.

KINGSTON, D.G.I. Taxol, a molecule for all seasons. **Chem. Commun.**, p. 867–880, 2001.

KITAYAMA, J.; YASUDA, K.; KAWAI, K.; SUNAMI, E.; NAGAWA, H. Circulating lymphocyte number has a positive association with tumor response in neoadjuvant chemoradiotherapy for advanced rectal cancer. **Radiat Oncol**, v. 5, n.47, 2010.

KOTSAKIS, A.; SARRA, E.; PERAKI, M.; KOUKOURAKIS, M.; APOSTOLAKI, S.; SOUGLAKOS, J.; MAVROMANOMAKIS, E.; VLACHONIKOLIS, J.; GEORGOULIAS, V. Docetaxel-induced lymphopenia in patients with solid tumors: a prospective phenotypic analysis. **Cancer**, v. 89, n. 6, p. 1380-1386, 2000.

KUBOTA, Y.; OHJI, H.; ITOH, K.; SASAGAWA, I.; NAKADA, T. Changes in cellular immunity during chemotherapy for testicular cancer. **Int J Urol**, v. 8, n. 11, p. 604-8. 2001.

KUO, Y.C.; HUANG, Y.L.; CHEN, C.C.; LIN, Y.S.; CHUANG, K.A.; TSAI, W.J. Cell cycle progression and cytokine gene expression of human peripheral blood mononuclear cells modulated by *Agaricus blazei*. **J Lab Clin Med**, v. 140, n. 3, p. 176-187, 2002.

LAZUARDI, L.; JENEWEIN, B.; WOLF, A.M.; PFISTER, G.; TZANKOV, A.; GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. Age-related loss of naïve T cells and dysregulation of T-cell/B-cell interactions in human lymph nodes. **Immunology**, v. 114, n. 1, p. 37-43, 2005.

LINTON, P.; THOMAN, M.L. T cell senescence. **Front Biosci**, v. 6, p. 248-261, 2001.

LISETH, K.; ERSVAER, E.; HERVIG, T.; BRUSERUD, Ø. Combination of Intensive Chemotherapy and Anticancer Vaccines in the Treatment of Human Malignancies: The Hematological Experience. **J Biomed Biotechnol**, v. 2010, n. 692097, 2010.

LUENGO, M.L. Uma revisão histórica dos principais acontecimentos da imunologia e da farmacologia na busca do entendimento e tratamento das doenças inflamatórias. **Rev Elet Farm**, v. 2, n. 2, p. 64-72, 2005

LUKOMSKA, B.; OLSZEWSKI, W.L.; ENGESET, A.; KOLSTAD, P. The effect of surgery and chemotherapy on blood NK cell activity in patients with ovarian cancer. **Cancer**, v. 51, p. 465-469, 1983.

MACKALL, C.L. T-cell immunodeficiency following cytotoxic antineoplastic therapy: a review. **The Oncologist**, v. 4, n. 5, p. 370-378, 1999.

MACKALL, C.L.; FLEISHER, T.A.; BROWN, M.R.; MAGRATH, I.T.; SHAD, A.T.; HOROWITZ, M.E.; WEXLER, L.H.; ADDE, M.A.; MCCLURE, L.L.; GRESS, R.E. Lymphocyte depletion during treatment with intensive chemotherapy for cancer. **Blood**, v. 84, n. 7, p. 2221-2228, 1994.

MACKAY, I.R.; GOODYEAR, M.D.; RIGLAR, C.; PENSCHOW, J.; WHITTINGHAM, S.; RUSSELL, I.S.; KITCHEN, P.R.; COLLINS, J.P. Effect on immunologic and other indices of adjuvant cytotoxic chemotherapy including melphalan in breast cancer. **Cancer**, v. 53, n. 12, p. 2619-2627, 1984.

MCCOY, M.J.; NOWAK, A.K.; LAKE, R.A. Chemoimmunotherapy: an emerging strategy for the treatment of malignant mesothelioma. **Tissue Antigens**, v. 74, n. 1, p. 1-10, 2009.

MACCORMICK, R.E. Possible acceleration of aging by adjuvant chemotherapy: a cause of early onset frailty? **Med Hypotheses**, v. 67, n. 2, p. 212-215. 2006.

MAYER, G.; NYLAND, J. Immunology. 7th edição, 2006. Chapter ten. **Major histocompatibility complex (mhc) and t-cell receptors - role in immune responses**. Disponível em <http://pathmicro.med.sc.edu/bowers/mhc.htm>. Acesso em 31/Abr/2011.

MITCHELL, M.S.; DECONTI, R.C. Immunosuppression by 5-fluorouracil. **Cancer**, v. 26, n. 4, p. 884-889, 1970.

MICKEL, R.A.; KESSLER, D.J.; TAYLOR, J.M.; LICHTENSTEIN, A. Natural killer cell cytotoxicity in the peripheral blood, cervical lymph nodes, and tumor of head and neck cancer patients. **Cancer Res**, v. 48, n. 17, p. 5017-5022, 1988.

MIZUNO, M.; MORIMOTO, M.; MINATO, K.; TSUCHIDA, H. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate Lymphocyte T-Cell subsets in mice. **Biosci Biotechnol Biochem**, v. 62, n. 3, p. 434-437, 1998.

MIZUNO, T.; SAITO, H.; NISHITOBA, T.; KAWAGISHI, H. Antitumor-active substances from mushrooms. **Food Rev Int**, v. 11, n. 1, p. 23-61, 1995.

MOTOHASHI, S.; NAKAYAMA, T. Clinical applications of natural killer T cell-based immunotherapy for cancer. **Cancer Sci**, v. 99, n. 4, p. 638-645, 2008.

MOZAFFARI, F.; LINDEMALM, C.; CHOUDHURY, A.; GRANSTAM-BJÖRNEKLET, T.H.; HELANDER, I.; LEKANDER, M.; MIKAELSSON, E.; NILSSON, B.; OJUTKANGAS, M.L.; OSTERBORG, A.; BERGKVIST, L.; MELLSTEDT, H. NK-cell and T-cell functions in patients with breast cancer: effects of surgery and adjuvant chemo- and radiotherapy. **Br J Cancer**, V. 97, n. 1, p. 105-111, 2007.

MUTA, T.; IWANAGA, S. The role of hemolymph coagulation in innate immunity. **Curr Opin Immunol**, v. 8, n. 1, p. 41-47, 1996.

NAKAJIMA, A.; ISHIDA, T.; KOGA, M.; TAKEUCHI, T.; MAZDA, O.; TAKEUCHI, M. Effect of hot water extract from *Agaricus blazei* Murill on antibody-producing cells in mice. **Int Immunopharmacol**, v. 2, n. 8, p. 1205-1211, 2002.

NAKAMURA, K.; MATSUNAGA, K. Susceptibility of natural killer (NK) cells to reactive oxygen species (ROS) and their restoration by the mimics of superoxide dismutase (SOD). **Cancer Biother Radiopharm**, v. 13, n. 4, p. 275-290, 1998.

NAKACHI, K.; HAYASHI, T.; IMAI, K.; KUSUNOKI, Y. Perspectives on cancer immune-epidemiology. **Cancer Sci**, v. 95, n. 12, p. 921-929, 2004.

NIO, Y.; TSUBONO, M.; TSENG, C.C.; MORIMOTO, H.; KAWABATA, K.; MASAI, Y.; SHIRAISHI, T.; IMAI, S.; OHGAKI, K.; TOBE, T. Immunomodulation by orally administered protein-bound polysaccharide PSK in patients with gastrointestinal cancer. **Biotherapy**, v. 4, n. 2, p. 117-128, 1992.

NIZAR, S.; COPIER, J.; MEYER, B.; BODMAN-SMITH, M.; GALUSTIAN, C.; KUMAR, D.; DALGLEISH, A. T-regulatory cell modulation: the future of cancer immunotherapy?. **British Journal of Cancer**, v. 100, p. 1697 – 1703, 2009.

NÜSSLER, N.C.; STANGE, B.J.; PETZOLD, M.; NUSSLER, A.K.; GLANEMANN, M.; GUCKELBERGER, O. Reduced NK-Cell Activity in Patients with Metastatic Colon Cancer. **EXCLI Journal**, v. 6, p. 1-9, 2007.

OKAMOTO, I.; MORIYAMA, E.; FUJII, S.; KISHI, H.; NOMURA, M.; GOTO, E.; KIYOFUJI, C.; IMAMURA, F.; MORI, T.; MATSUMOTO, M. Phase II study of carboplatin-paclitaxel combination chemotherapy in elderly patients with advanced non-small cell lung cancer. **Jpn J Clin Oncol**, v. 35, n. 4, p. 188-194, 2005.

OHWADA, S.; IKEYA, T.; YOKOMORI, T.; KUSABA, T.; ROPPONGI, T.; TAKAHASHI, T.; NAKAMURA, S.; KAKINUMA, S.; IWAZAKI, S.; ISHIKAWA, H.; KAWATE, S.; NAKAJIMA, T.; MORISHITA, Y. Adjuvant immunochemotherapy with oral Tegafur/Uracil plus PSK in patients with stage II or III colorectal cancer: a randomised controlled study. **Br J Cancer**, v. 90, n. 5, p. 1003-1010, 2004.

PAWELEC, G.; SOLANA, R.; REMARQUE, E.; MARIANI, E. Impact of aging on innate immunity. **J Leukoc Biol**, v. 64, n. 6, p. 703-712, 1998.

PAVLIDIS, N.; CHIRIGOS, M. Stress-induced impairment of macrophage tumoricidal function. **Psychosom Med**, v. 42, n. 1, p. 47-54, 1980.

PERCÁRIO, S.; NAUFAL, A.S.; GENNARI, M.S.; GENNARI, J.L. Antioxidant Activity of Edible Blushing Wood Mushroom, *Agaricus sylvaticus* Schaeff. (Agaricomycetideae) *In Vitro*. **Int J Med Mushrooms**, v. 11, n. 2, p. 133-139, 2009.

PERCARIO, S.; ODORIZZI, V.F.; SOUZA, D.R.; PINHEL, M.A.; GENNARI, J.L.; GENNARI, M.S.; GODOY, M.F. Edible mushroom *Agaricus sylvaticus* can prevent the onset of atheroma plaques in hipercholesterolemic rabbits. **Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)**, v. 54, p. 1055-1061, 2008.

PORRATA, L.F.; INWARDS, D.J.; MICALLEF, I.N.; ANSELL, S.M.; GEYER, S.M.; MARKOVIC, S.N. Early lymphocyte recovery post-autologous haematopoietic stem cell transplantation is associated with better survival in Hodgkin's disease. **Br J Haematol**, v. 117, p. 629-633, 2002.

RAKHMILEVICH, A.L.; TURNER, J.; FORD, M.J.; MCCABE, D.; SUN, W.H.; SONDEL, P.M.; GROTA, K.; YANG, N.S. Gene gun-mediated skin transfection with interleukin 12 gene results in regression of established primary and metastatic murine tumors. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 93, n. 13, p. 6291-6296, 1996.

RECCHIA, F.; SICA, G.; CANDELORO, G.; NECOZIONE, S.; BISEGNA, R.; BRATTA, M.; REA, S. Maintenance immunotherapy in metastatic breast cancer. **Oncol Rep**, v. 20, n. 5, p. 1173-1179, 2008.

RECCHIA, F.; CANDELORO, G.; NECOZIONE, S.; ACCORSI, P.; RECCHIA, C.O.; TOMBOLINI, V.; REA, S. Prolonged disease control after myeloablative chemotherapy, autologous transplantation and immunotherapy in high-risk early breast cancer. **Anticancer Res**, v. 30, n. 1, p. 209-215, 2010.

RODER, J.C.; HALIOTIS, T.; KLEIN, M.; KOREC, S.; JETT, J.R.; ORTALDO, J.; HEBERMAN, R.B.; KATZ, P.; FAUCI, A.S. A new immunodeficiency disorder in humans involving NK cells. **Nature**, v. 284, p.:553-555, 1980.

ROITT, I.M.; BROSTOFF, J.; MALE, P. **Imunologia** . 6.ed. São Paulo: Manole, 2003.

ROMANYUKHA, A.A.; YASHIN, A.I. Age related changes in population of peripheral T cells: towards a model of immunosenescence. **Mech Ageing Dev**, v. 124, n. 4, p. 433-443, 2003.

ROSS, G.D.; VETVICKA, V.; YAN, J.; XIA, Y.; VETVICKOVÁ, J. Therapeutic intervention with complement and beta-glucan in cancer. **Immunopharmacology**, v. 42, n. 1-3, p. 61-74, 1999.

SAKURAI, T.; HASHIMOTO, K.; SUZUKI, I.; OHNO, N.; OIKAWA, S.; MASUDA, A.; YADOMAE, T. Enhancement of murine alveolar macrophage functions by orally administered β -glucan. **Int J Immunopharmacol**, v. 14, n. 5, p. 821-830, 1992.

SANTANA, A. E. Falta igualdade no combate ao câncer. ASCOM-GM. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Clipping Seleção de Notícias. Disponível em: <https://conteudoclipingmp.planejamento.gov.br/cadastros/noticias/2011/3/31/falta-igualdade-no-combate-ao-cancer>. Acesso em 31/Abr/2011.

SCHINDLER, L. National Cancer Institute. **Understanding Cancer and Related Topics. Understanding the Immune System**, 2005.

SHIMIZU, S.; KITADA, H.; YOKOTA, H.; YAMAKAWA, J.; MURAYAMA, T.; SUGIYAMA, K.; IZUMI, H.; YAMAGUCHI, N. Activation of the alternative complement pathway by *Agaricus blazei* Murill. **Phytomedicine**, v. 9, n. 6, p. 536-45, 2002.

SHIMIZU, K.; WATANABE, S.; WATANABE, S.; MATSUDA, K.; SUGA, T.; NAKAZAWA, S.; SHIRATORI, K. Efficacy of oral administered superfine dispersed lentinan for advanced pancreatic cancer. **Hepatogastroenterology**, v. 56, n. 89, p. 240-244, 2009.

SHYLYAKHOVENKO, V.; KOSAK, V.; OLISHEVSKY, S. Application of DNA from mushroom *Pleurotus ostreatus* for cancer biotherapy: a pilot study. **Exp Oncol**, v. 28, n. 2, p. 132-135, 2006.

SIBBITT, W.L. Jr.; BANKHURST, A.D.; JUMONVILLE, A.J.; SAIKI, J.H.; SAIERS, J.H.; DOBERNECK, R.C. Defects in natural killer cell activity and interferon response in human lung carcinoma and malignant melanoma. **Cancer Res**, v. 44, n. 2, p. 852-856, 1984.

SINDFARMAJP. No SUS, pacientes de câncer enfrentam falta de radioterapia e remédios modernos. 2010. Disponível em http://www.sindifarmajp.com.br/noticias.php?not_id=1888. Acesso em: 31/Abr/2011.

SKLAR, L.S.; ANISMAN, H. Stress and cancer. **Psychol Bull**, v. 89, n. 3, p. 369-406, 1981.

SMITH, J.E.; ROWAN, N.J.; SULLIVAN, R. **Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments**. Cancer Research UK, University of Strathclyd, 2002.

SOLANA, R.; PAWELEC, G.; TARAZONA, R. Aging and innate immunity. **Immunity**, v. 24, n. 5, p. 491-494, 2006.

SOLOMAYER, E.F.; FEUERER, M.; BAI, L.; UMANSKY, V.; BECKHOVE, P.; MEYBERG, G.C.; BASTERT, G.; SCHIRRMACHER, V.; DIEEL, I.J. Influence of adjuvant hormone therapy and chemotherapy on the immune system analysed in the bone marrow of patients with breast cancer. **Clin Cancer Res**, v. 9, n. 1, p. 174-180, 2003.

SORIMACHI, K.; AKIMOTO, K.; IKEHARA, Y.; INAFUKU, K.; OKUBO, A.; YAMAZAKI, S. Secretion of TNF-alpha, IL-8 and Nitric Oxide by Macrophages Activated with *Agaricus blazei* Murril Fractions in vitro. **Cell Structure and Function**, v. 26, n. 2, p. 103-108, 2001.

SOUZA, C. Oncologia no Estado vira caso de Polícia. Disponível em: <http://www.infonet.com.br/saude/ler.asp?id=93853&titulo=saude>. Acesso em 31/Abr/2011.

SULLIVAN, J.L.; BYRON, K.S.; BREWSTER, F.E.; PURTILO, D.T. Deficient natural killer cell activity in x-linked lymphoproliferative syndrome. **Science**, v. 210, n. 4469, p. 543-545, 1980.

SUZUKI, I.; TANAKA, H.; KINOSHITA, A.; OIKAWA, S.; OSAWA, M.; YADOMAE, T. Effect of orally administered β -glucan on macrophage function in mice, **Int J Immunopharmacol**, v. 12, n. 6, p. 675-684, 1990.

TAHIR, S.M.; CHENG, O.; SHAULOV, A.; KOEZUKA, Y.; BUBLEY, G.J.; WILSON, S.B.; BALK, S.P.; EXLEY, M.A. Loss of IFN-gamma production by invariant NK T cells in advanced cancer. **J Immunol**, v.167, n. 7, p. 4046-4050, 2001.

TAKAKU, T.; KIMURA, Y.; OKUDA, H. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murill and its mechanism of action. **J Nutr**, v. 131, p. 1409-1413, 2001.

TOLANEY, S.M.; NAJITA, J.; WINER, E.P.; BURSTEIN, H.J. Lymphopenia associated with adjuvant anthracycline/ taxane regimens. **Clin Breast Cancer**, v. 8, n. 4, p. 352-356, 2008.

TSANG, K.W.; LAM, C.L.; YAN, C.; MAK, J.C.; OOI, G.C.; HO, J.C.; LAM, B.; MAN, R.; SHAM, J.S.; LAM, W.K. *Coriolus versicolor* polysaccharide peptide slows progression of advanced non-small cell lung cancer. **Respir Med**, v. 97, n. 6, p. 618-624, 2003.

TSAVARIS, N.; KOSMAS, C.; VADIKA, M.; KANELOPOULOS, P.; BOULAMATSIS, D. Immune changes in patients with advanced breast cancer undergoing chemotherapy with taxanes. **Br J Cancer**, v. 87, n. 1, p. 21-27, 2002.

TZIANABOS, A.O. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. **Clin Microbiol Rev**, v. 13, n. 4, p. 523-533, 2000.

URBEN, A.F. Caracterização morfológica e fisiológica em acessos de *Agaricus blazei* Murrill e *A. sylvaticus* Schaeffer. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 37, 2007.

URBEN, A.F.; OLIVEIRA, H.C.B.; VIEIRA, W.; CORREIA, M.J.; ORIATT, A.H. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada**. Brasília, DF: EMBRAPA Recursos genéticos e biotecnologia, 2001, 151p.

VEDEL, S.J.; THOLSTRUP, D.; KOLTE, L.; GAARDBO, J.; RYDER, L.P.; ERSBØLL, A.; ALBRECHT-BESTE, E.; JURLANDER, J.; NIELSEN, J.O.; NIELSEN, S.D. Limited Impact of the Thymus on Immunological Recovery During and After Chemotherapy in Patients with Diffuse Large B-cell Lymphoma. **Scand J Immunol**, v. 69, n. 6, p. 547-554, 2009.

WOOD, P. **Understanding Immunology**. 2nd edition, Benjamin Cummings, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Cancer**. Fact sheet N°297. February 2011. [homepage on the Internet]. Geneva: World Health Organization. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>. Acesso em 31/Abr/2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO Traditional Medicine Strategy**, 2002.

WU, D.; PAE, M.; REN, Z.; GUO, Z.; SMITH, D.; MEYDANI, S.N. Dietary supplementation with white button mushroom enhances natural killer cell activity in C57BL/6 mice. **J Nutr**, v. 137, p. 1472-1477, 2007.

WU, J.; LANIER, L.L. Natural killer cells and cancer. **Adv Cancer Res**, v. 90, p. 127-156, 2003.

ZITVOGEL, L.; APETOH, L.; GHIRINGHELLI, F.; KROEMER, G. Immunological aspects of cancer chemotherapy. **Nat Rev Immunol**, v. 8, p. 59-73, 2008.

ZITVOGEL, L.; KEPP, O.; KROEMER, G. Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens. **Nat Rev Clin Oncol**. V. 8, n. 3, p. 151-160, 2011.