

FUNDAÇÃO HERBARIUM DE SAÚDE E PESQUISA
Curso de Fitomedicina

Propriedades antitumorais do cogumelo do sol

ANEIZA SIMONI LUCAS

Frederico Westphalen-RS, fevereiro de 2008.

Aneiza Simoni Lucas

Propriedades antitumorais do cogumelo do sol

Trabalho de conclusão apresentado por Aneiza Simoni Lucas à Fundação Herbarium de Saúde e Pesquisa, cumprindo exigência para a conclusão do curso de Fitomedicina.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Rodrigo Cordeiro Bolzan

Frederico Westphalen-RS, fevereiro de 2008.

“Faça o que for necessário para ser feliz. Mas não se esqueça que a felicidade é um sentimento simples, você pode encontrá-la e deixá-la ir embora por não perceber sua simplicidade.”

Mário Quintana

AGRADECIMENTO

Primeiramente a Deus por todas as bênçãos que me concedeu.

Aos meus pais, pela vida e pelo apoio em cada etapa da minha vida, me ajudando e incentivando em tudo.

Ao meu orientador e esposo Professor Rodrigo Cordeiro Bolzan, por fazer parte de minha vida, homem este que me enfeitiçou e deixou minha vida repleta de encantos, pela paciência, dedicação, companheirismo e incentivo que não mediu esforços para que a elaboração deste trabalho chegasse ao fim.

A todos os profissionais da Fundação Herbarium de Saúde e Pesquisa, que juntos nos oportunizam aumentar e buscar novos conhecimentos.

RESPONSÁVEIS

Orientador:

Prof Dr Rodrigo Cordeiro Bolzan

TITULAÇÃO:

Farmacêutico Bioquímico – UFSM - 2000

Mestre em Bioquímica Toxicológica – UFSM - 2002

Doutor em Química (Área de Concentração: Química Analítica) – UFSM - 2007

Executora:

Aneiza Simoni Lucas

TITULAÇÃO:

Farmacêutica Bioquímica – URI - 2006

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. O cogumelo do sol.....	3
3. Compostos farmacologicamente ativos presentes no cogumelo do sol.....	6
3.1. A ação antitumoral do cogumelo do sol.....	7
3.1.1. Evidências da ação antitumoral do cogumelo do sol – efeito na dieta de camundongos.....	9
3.1.2. Evidências experimentais da ação antitumoral do cogumelo do sol – a ação da β -1,6-D glucana.....	10
3.1.3. Evidências experimentais da ação antitumoral do cogumelo do sol – a ação dos esteróides e de outras substâncias.....	16
3.1.4. Fatores que afetam a ação antitumoral do cogumelo do sol.....	19
4. Estudos relativos aos efeitos tóxicos do cogumelo do sol.....	20
5. CONCLUSÃO.....	21
6. REFERÊNCIAS.....	22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. O cogumelo do sol.....	3
Figura 2. Estrutura do ergosterol e do ácido linoleico.....	4
Figura 3. Estrutura da arabinose, da glicose e da triose.....	5
Figura 4. Estrutura da β -1,6-D-glucana e da β -1,3-D-glucana.....	8

RESUMO

O interesse nas propriedades medicinais de produtos naturais tem aumentado devido ao seu uso popular na medicina tradicional. A medicina tradicional (alternativa) é freqüentemente usada para prevenir ou tratar várias doenças humanas, incluindo o câncer. Entre os medicamentos tradicionalmente usados, o fungo basidiomiceto *A. Blazei* (cogumelo do sol) originário das regiões subtropicais do Brasil vem sendo freqüentemente consumido como alimento ou na forma de chá em diferentes partes do mundo devido as suas propriedades medicinais entre elas na profilaxia e tratamento de câncer. Entre as substâncias constituintes do cogumelo do sol às quais são atribuídas propriedades farmacológicas, estão a 1,6 β -D-glucana, o ácido linoleico e o ergosterol. Vários estudos científicos já apontam evidências de ação farmacológica destes compostos. Dentre as propriedades farmacológicas atribuídas a esses agentes pode-se citar seus efeitos citotóxicos, anti-carcinogênicos, antimutagênicos e antígenotóxicos. Estes compostos podem gerar uma grande quantidade de agentes terapêuticos comerciais contra o câncer em um futuro próximo, entretanto persiste a necessidade de realização de novos estudos que elucidem a exata composição do cogumelo do sol e o exato mecanismo de ação farmacológica antitumoral de seus componentes.

ABSTRACT

The interest in the medicinal properties of natural products has increased due to its use in popular and traditional medicine. Traditional medicine is often used to prevent or treat many human diseases, including cancer. Among the drugs traditionally used, the fungus basidiomicet *A. Blazei* (sun mushroom) originating from subtropical regions of Brazil has been frequently consumed as food or in the form of tea in different parts of the world because their medicinal properties including the prophylaxis and treatment of cancer. Among the substances in the sun mushroom to which they are assigned pharmacological properties are to 1.6 β -D-glucan, linoleic acid and ergosterol. Several scientific studies already show evidence of pharmacological action of these compounds. Among the pharmacological properties attributed to these agents, it can be cited its cytotoxic, anti-carcinogenic, antimutagenic and antigenotoxic effects. These compounds can generate a large amount of therapeutic agents against cancer trading in the near future, however remains the need to hold further elucidative studies about the exact sun mushroom composition and the exact mechanism of pharmacological antitumoral action of its components.

1. INTRODUÇÃO

O interesse nas propriedades medicinais de produtos naturais tem aumentado devido ao seu uso popular na medicina tradicional.

A medicina tradicional (alternativa) é freqüentemente usada para prevenir ou tratar várias doenças humanas, incluindo o câncer. De acordo com Ernest e Cassileth (1999) as terapias alternativas são imensamente populares e sua prevalência na população em geral é de 40% nos Estados Unidos, 50% na Austrália e 65 % na Alemanha. Nos países da Ásia, África e América do Sul, a prevalência de métodos alternativos, especialmente a fitoterapia, pode ser maior do que as já relatadas para os outros países mencionados, devido ao difundido uso da medicina tradicional. Entre as terapias alternativas, o uso do chá de cogumelos é uma das práticas mais populares.

A descoberta de compostos bioativos em cogumelos, incluindo substâncias antitumorais, tem sido alvo de crescente interesse nestes cogumelos pela indústria, pela mídia e pela comunidade científica (Mizuno, 2002).

Os produtos naturais têm sido tradicionalmente aceitos como medicamentos devido à crença popular de que eles apresentam menos efeitos adversos. Assim, o entendimento do potencial benéfico dos produtos naturais e de seus efeitos adversos é importante para a implementação de

medidas de segurança em saúde pública. Devido ao grande consumo de cogumelos pela medicina popular, em especial o cogumelo do sol, é fundamental que se conheçam as substâncias que os compõe e os mecanismos de ação destas substâncias.

2. O cogumelo do sol

O fungo basidiomiceto *A. Blazei* (Figura 1) também conhecido como cogumelo do sol, sun mushroom, himematusutake ou kawariharatake, é originário das regiões subtropicais do Brasil, sendo freqüentemente consumido como alimento ou na forma de chá em diferentes partes do mundo devido as suas propriedades medicinais, como por exemplo, *i*) afrodisíaco, *ii*) agente antiestresse, *iii*) no combate ao diabetes, *iv*) no tratamento de distúrbios gástricos, *v*) no tratamento da osteoporose e *vi*) na profilaxia e tratamento de câncer, este último devido a possíveis efeitos anticarcinogênicos e antimutagênicos.



Figura 1. O cogumelo do sol.

O fungo *A. Blazei* é constituído por 85-97% de água. Quando desidratado, ele é rico em proteínas (40-45%) e carboidratos (3-4%). Também contém fibras dietéticas (6-8%), lipídios (3-4%) e vitaminas, principalmente B₁, B₂ e niacina. O ergosterol (3B-hidroxi-5,7,22-

ergostatrieno, pro-vitamina D2), 0,1-0,2% do peso seco, e o ácido linoleico (70-80% do total de lipídios) (Figura 2) são os lipídios mais preponderantes. (Osaki *et al.*, 1994; Mizuno, 1995).

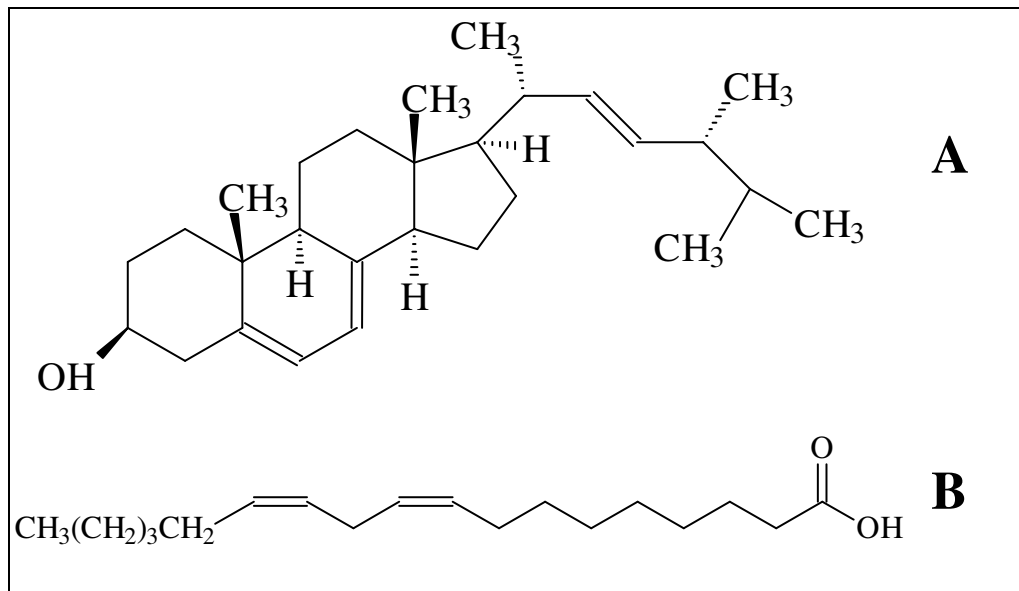


Figura 2. Estrutura do ergosterol (A) e do ácido linoleico (B).

Muitas substâncias protetoras de dano celular, e por conseqüência com ação anticâncer, foram encontradas no cogumelo do sol (Lohman, 2001), entre elas os polímeros de açúcares, que tem sido fracionados, caracterizados estruturalmente e testados quanto a sua capacidade antitumoral (Kawagishi *et al.*, 1989).

Chang *et al.* (2001) mostraram que o *A. Blazei* proporciona uma apreciável quantidade de compostos aromáticos não voláteis e açúcares solúveis, sendo os mais comuns a arabinose, a glicose e a trealose (Figura 3) (Chang *et al.*, 2001).

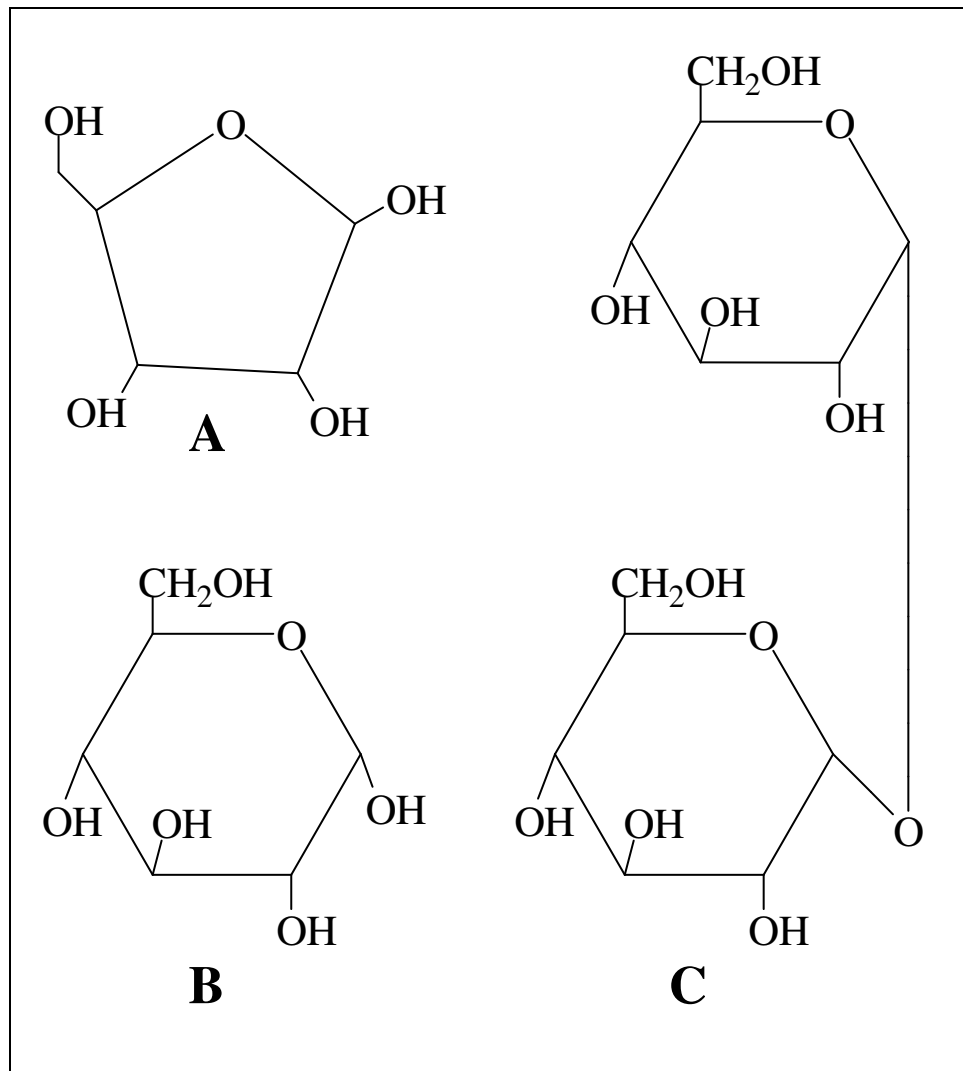


Figura 3. Estrutura da arabinose (A), da glicose (B) e da triose (C).

A partir deste cogumelo foram isolados esteróides citotóxicos (Kawagishi *et al.*, 1988a) e uma lecitina que possui atividade hemoaglutinante (Kawagishi *et al.*, 1988b).

Devido à sua composição, os fungos tem sido objeto de dietas pois são excelentes matérias primas para dietas de baixas calorias e como alimento funcional (Mizuno *et al.*, 1995; Wasser e Weis, 1999).

O consumo de *Agaricus blazei* Murill aumentou significativamente no Brasil, Japão, China, Coréia, Canadá e Estados Unidos, de forma concomitante com o aumento da produção e do marketing sobre o mesmo como suplemento dietético (Lee *et al.*, 2008).

Devido às propriedades curativas popularmente conhecidas do cogumelo do sol e de seu elevado uso como medicamento, este cogumelo medicinal está sendo agora produzido em escala industrial em alguns países como China, Japão e Brasil. Assim, surge a necessidade de reunir os conhecimentos produzidos de forma científica sobre suas propriedades curativas e tóxicas.

3. Compostos farmacologicamente ativos presentes no cogumelo do sol

Entre as substâncias constituintes do cogumelo do sol as quais são atribuídas propriedades farmacológicas, estão a 1,6 β -D-glucana (com atividade antitumoral), o ácido linoleico e o ergosterol (agentes antimutagênicos e antineovascularização). As evidências de ação farmacológica destes compostos e os fatores que modificam sua função serão discutidos detalhadamente em seções específicas deste trabalho.

Kawagishi *et al.* (1989) foram os primeiros pesquisadores a separar os compostos ativos do cogumelo do sol. Estes pesquisadores detectaram a ocorrência de polissacarídeos 1,6 β -D-glucana e 1,3 β -D-glucana com atividade antitumoral ligado a um complexo proteico. Esses polissacarídeos estão associados com atividade antitumoral ligada ao estímulo do sistema imune (Ito *et al.*, 1994).

Outros compostos químicos como ácido linoleico e ergosterol também tem importantes propriedades antimutagênicas e antineovascularização (Takaku *et al.*, 2001). As fibras dietéticas diminuem a absorção (ação física) e aceleram a excreção (ação laxativa) de agentes carcinogênicos da dieta (Klurfeld, 1992).

3.1. A ação antitumoral do cogumelo do sol

Vários polissacarídeos e proteínas ligadas a polissacarídeos tem sido isolados a partir do cogumelo do sol, e tem demonstrado atividade antitumoral em camundongos através da ativação da resposta imune de forma específica e inespecífica (Kawagishi *et al.*, 1989; Ito *et al.*, 1994 e 1997). Dentre os polissacarídeos que podem estimular o sistema imunológico presentes no cogumelo do sol, a β -1,6-D-glucana (Figura 4-A) é o polissacarídeo majoritário com esta atividade.

Vários polissacarídeos anticarcinogênicos tem sido extraídos de cogumelos, a maioria composta por cadeias de D-glicose em ligações β -1,3 (Figura 4-B). Já a ocorrência de uma D-glucana constituída unicamente de resíduos com ligações β -1,6 é uma característica única do cogumelo do sol (Kawagishi *et al.*, 1989).

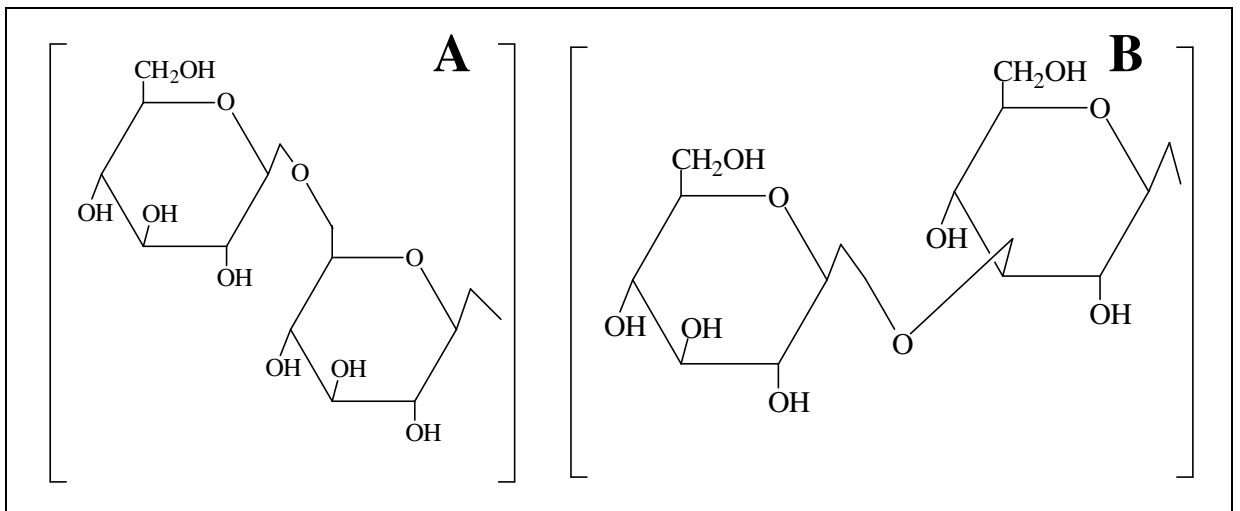


Figura 4. Estrutura da β -1,6-D-glucana (A) e da β -1,3-D-glucana (B).

A atividade antitumor do cogumelo do sol tem sido relacionada a frações de extratos que contém em sua composição majoritariamente, o polissacarídeo β -glucana (1,6) β -D glucopiranosil (50,2 % da fração de maior atividade). Quanto às proteínas presentes na fração de maior atividade (43,3 % da mesma), estas estão constituídas principalmente por aminoácidos ácidos como alanina e leucina, enquanto outros aminoácidos

como a metionina, a histidina e a tirosina estão em baixas quantidades. Ainda, pode-se então concluir que está presente nesta fração uma proteína e uma 1,6-β-D-glicopirranana, entretanto não há evidência conclusiva de ligação covalente entre a proteína e o polissacarídeo. Assim, a atividade antitumor da glucana do cogumelo do sol é a primeira de um polissacarídeo contendo apenas ligações beta 1,6 (Kawagishi *et al.*, 1989). Entretanto, os resultados de pesquisas apontam que o componente protéico da fração é essencial para a atividade antitumor, sendo que a glucana livre da proteína é incapaz de apresentar a forte atividade antitumoral apresentada pelo complexo glucana-proteína (Kawagishi *et al.*, 1990).

3.1.1. Evidências da ação antitumoral do cogumelo do sol – efeito na dieta de camundongos

Apenas um estudo na literatura relaciona o consumo de cogumelo do sol na dieta com sua atividade antitumoral. Neste estudo foi demonstrada a influência benéfica de uma dieta contendo 10% de cogumelo do sol por 6 semanas em camundongos com câncer hepático induzido por dietilnitrosamina (DEN). A influência benéfica da dieta foi dependente da linhagem e do período de desenvolvimento do fungo (basidiocarpo aberto ou fechado) e foi caracterizada por redução da proliferação celular. Os animais não apresentaram nenhuma evidência de toxicidade referente ao

consumo deste cogumelo após 6 semanas de tratamento. Esta ausência de toxicidade a curto prazo em espécies de mamíferos deve ser levada em consideração no caso de implementação de políticas públicas de consumo desse cogumelo pela população humana. O aumento do consumo de alimentos pelos animais que foram suplementados com cogumelo do sol na dieta sem correlação com o uso do DEN, verificada neste estudo, pode ser atribuída a diferentes fatores, como compensação nutricional, aumento da palatabilidade ou ao maior conteúdo de fibras, sendo que de acordo com os autores, a compensação nutricional é a hipótese mais razoável (Pinheiro *et al.*, 2003).

3.1.2. Evidências experimentais da ação antitumoral do cogumelo do sol – a ação da β -1,6-D glucana

As evidências experimentais acerca do potencial antitumoral do cogumelo do sol tem sido demonstradas através do uso de extratos deste cogumelo em modelos de indução de tumores em laboratório. Nestes estudos as principais variáveis testadas são: *i)* o modelo de indução tumoral, *ii)* a temperatura de obtenção dos extratos e *iii)* a linhagem de cogumelo do sol utilizada. Assim, serão apresentados aqui os principais estudos realizados sob estas variáveis.

Kanemo *et al* (2004) verificaram a atividade antitumoral do cogumelo do sol sobre o tumor de Ehrlich em camundongos (por gavagem) utilizando extratos metanólicos, clorofórmicos e hexânicos. Neste estudo os autores verificaram que apenas os extratos clorofórmico e hexânicos exibiram atividade farmacológica, mesmo assim, somente quando o tratamento foi realizado por períodos maiores que 10 dias, sendo que nos animais tratados com o extrato hexânico houve aumento da proliferação de linfócitos no baço. Estes dois extratos também foram capazes de estimular a produção de anticorpos ao tumor após 30 dias de tratamento. A análise dos extratos usando GC-MS e ressonância magnética nuclear revelou que o extrato hexânico está constituído principalmente por ácidos graxos e açúcares, enquanto que o extrato metanólico (de menor atividade) esteve constituído por açúcares e aminoácidos. Já quando o modelo experimental foi o efeito mutagênico do benzopireno utilizando o teste de AMES, os extratos hexânico, clorofórmicos e metanólico de *A. blazei* demonstraram efeito antimutagênicos (Osaki *et al.*, 1994).

Barbisan *et al.* (2002) ao verificar os efeitos hepatoprotetores dos extratos aquosos de várias linhagens de cogumelo do sol na toxicidade hepática e na iniciação de hepatocarcinogênese induzidas por dose moderadamente tóxica de DEN verificaram que os extratos aquosos de *A. Blazei* da linhagem AB 99/26 exerceram os efeitos hepatoprotetor na toxicidade hepática e na iniciação de hepatocarcinogênese induzidas por

DEN mais pronunciados. Neste trabalho também foram verificadas respostas variáveis para estes mesmos parâmetros relativos às diversas espécies utilizadas neste estudo, as quais foram atribuídas à variação da composição bioquímica entre as linhagens. Estes autores ainda relataram que outros motivos prováveis para ausência de atividade antimutagênica em alguns estudos pode ser a ausência de compostos ativos com capacidade antimutagênica em alguns extratos, ou uso de concentrações insuficientes nos mesmos. Também utilizando extratos aquosos de uma mistura de linhagens de cogumelos *A. Blazei* foi demonstrado que os mesmos possuem efeito protetor *in vivo* contra clastogenia induzida por ciclofosfamida em camundongos. Os animais pré-tratados com três diferentes extratos preparados a 4°C , 21°C e 60 °C tiveram diminuição significativa na frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos e reticulócitos (Delmanto *et al.*, 2001; Menoli *et al.*, 2001).

Guterrez *et al.* (2004) testaram os extratos aquosos de cogumelo do sol da linhagem AB 97/29 obtidos a 4, 25 e 60 °C quanto a suas propriedades antimutagênicas, genotóxicas e antigenotóxicas utilizando células de pulmão de hamsters chineses V79 antes, durante e após a exposição destas ao agente mutagênico metilmetanosulfonato (MMS). Estes autores concluíram que estes extratos não apresentam potencial genotóxico. Quanto a ação antigenotóxicas, apenas os extratos obtidos a 60 °C a demonstraram, em qualquer fase do desenvolvimento tumoral,

mostrando que nem todas as formas de obtenção de chá podem apresentar os efeitos farmacologicamente esperados. O MMS é um agente alquilante que produz quebras cromáticas e isocromáticas, mas a principal redução na frequência de quebras detectadas neste estudo foi do tipo isocromática. Este fato pode indicar uma maior eficiência protetora dos extratos de *A. Blazei* nas fases G1 e S do ciclo celular, onde este tipo de aberração ocorre (Bellini *et al.*, 2003).

Ao avaliar os efeitos anticlastogênicos de extratos aquosos de duas linhagens de *A. Blazei* (ABM 99/26 e ABM 97/11) obtidos a 4°C, 25°C e 60°C, frente ao agente alquilante MMS em células ovarianas de hamsters chineses (CHO-k1), Bellini *et al.* (2003) encontraram redução significativa do total de células com quebras de DNA induzidas pelo MMS quando estas foram incubadas com extratos de *A. Blazei* em comparação com as não incubadas, não importando a temperatura no qual o extrato foi preparado ou o estágio de desenvolvimento do fungo (jovem ou esporulante). Os dados mostrados neste estudo mostraram que os extratos de ambas linhagens de *A. Blazei* são eficientes protetores contra danos ao DNA induzidos por MMS, sugerindo a presença de um agente protetor. Menoli *et al.* (2001) também encontraram efeitos antimutagênicos em uma mistura de linhagens de *A. blazei* no teste de micronúcleos em células V79 tratadas com MMS.

Ainda utilizando o MMS como agente mutagênico, Oliveira *et al.* (2002) avaliaram os efeitos genotóxicos e antigenotóxicos de extratos

aquosos de cogumelo do sol da linhagem 99/26 preparados nas temperaturas de 4, 25 e 60 °C em células de mamíferos em cultura. Nenhum dos extratos apresentou atividade genotóxica, e os resultados mostraram ausência de efeito da temperatura de obtenção dos extratos na atividade antigenotóxica do tipo desmutagênica que foi observada em todos os extratos. O extrato obtido a 60 °C foi o de menor eficiência antigenotóxica frente a ação do MMS em células V79, mostrando que o calor pode inativar o composto ou os compostos responsáveis pelos efeitos protetores observados. Os resultados permitiram ainda afirmar que o cogumelo do sol possui atividade antimutagênica do tipo desmutagênica (que inativa enzimática ou quimicamente a substância mutagênica), de acordo com a classificação proposta por Kuroda *et al.* (1992), o que é confirmado por Menoli *et al.* (2001) usando o mesmo tipo de célula V79. Ainda, os resultados obtidos nos estudos sobre a formação de micronúcleos também podem sugerir que os extratos também possuem atividade antimutagenica do tipo bioantimutagênica (reparando ou protegendo o sistema de proteção do DNA contra danos) (Kuroda *et al.* (1992). O primeiro composto obtido do cogumelo do sol conhecido por ter atividade antimutagênica e antitumoral foi uma glicoproteína na presença de β -D-1,6 glucana. Também foi verificada a presença de ácido linoleico neste cogumelo. Uma vez que esses compostos são conhecidos agentes antitumorais com baixa toxicidade aos tecidos normais, é possível que

também possuem atividade antimutagênica. Entretanto, em termos de mecanismo de ação, os efeitos antimutagênicos desses compostos não podem ser diretamente relacionados ao efeito antitumoral, pois o efeito antitumoral pode ser obtido principalmente pela modulação do sistema imunológico, ativando macrófagos, neutrófilos e linfócitos, e não devido a uma ação direta no tecido tumoral (Takasaburo e Yoshiaki, 1998). Ito *et al.* (1997) observaram que a 1,6 β -D-glucana deste cogumelo pode inibir o crescimento do sarcoma. As β -glucanas isoladas em frações solúveis e insolúveis em água de *A. blazei* parecem ser os componentes antitumorais majoritários, devido as suas propriedades imunoestimulatórias que foram relatadas por alguns pesquisadores (Fujimiyra *et al.*, 1998).

Delmanto *et al.* (2001) relataram propriedades antimutagênicas do cogumelo do sol em relação a ação indireta do agente ciclofosfamida *in vivo*. A ciclofosfamida é um agente alquilante como o MMS. Este fato pode sugerir que os extratos de cogumelo do sol são eficientes protetores contra agentes alquilantes, mas não permite generalização sobre os mecanismos de ação do mesmo, pois outros agentes causadores de danos ao DNA precisam ser testados. Estes resultados permitem sugerir que o agaricus pode ser antimutagênico *in vivo* e *in vitro*.

3.1.3. Evidências experimentais da ação antitumoral do cogumelo do sol – a ação dos esteróides e de outras substâncias

Os extratos de *A. blazei* obtidos com o uso de solução extratora clorofórmio:metanol (2:1) demonstram possuir atividade antitumoral, na qual o ergosterol foi apontado como o responsável por esta atividade. Apesar de ele não ser citotóxico para as células tumorais, o ergosterol demonstrou ser efetivo em bloquear a angiogênese, causando a morte das células tumorais por prevenção da neovascularização (Takaku *et al.*, 2001). Entretanto, o efeito clastogênico do *A. blazei* demonstrado neste estudo não pode ser correlacionado, em termos de mecanismo de ação, diretamente ao efeito antitumoral. O extrato de *A. blazei* age principalmente através da modulação do sistema imune, ativando macrófagos, neutrófilos e linfócitos, não tendo efeito direto sobre o tecido tumoral (Takasaburo e Yoshiaki, 1998). Os extratos etanólicos de *A. blazei* tem demonstrado afetar o sistema imune estimulando macrófagos e aumentando a expressão do RNAm de citocinas (Sorimachi *et al.*, 2001).

Luiz *et al.* (2003) também determinaram a ocorrência ou não de efeito clastogênico ou anticlastogênico em extratos orgânicos (etanol e etanol/clorofórmio) do cogumelo do sol da linhagem AB 97/11 em células CHO-K1 e CHO-XRS5 de hamsters chineses. Estes autores observaram que os extratos orgânicos de cogumelo do sol apresentaram atividade

protetora do tipo bio-antimutagênica. Os resultados ainda permitiram sugerir que os extratos possuem substâncias que agem como moduladoras do reparo e da replicação do DNA, agindo a nível celular aumentando a fidelidade da replicação do DNA, estimulando o reparo de danos no DNA e inibindo a ocorrência de erros ligada aos sistemas de reparo.

Os esteróides do *A. blazei* derivados do cerevisterol e do ergosterol demonstraram ser citotóxicos. Estes esteróides foram isolados por extração com acetona e testados em células HeLa S3 (células de carcinoma epitelial de cervix humano) (Kawagishi *et al.*, 1988a; Mizushina *et al.*, 1998) demonstrando efeito inibitório do cerecisterol nas polimerases de replicação do DNA, especialmente na DNA polimerase.

Com relação à toxicidade, os derivados citotóxicos do cerevisterol e do ergosterol isolados do *agaricus* em extratos cetônicos (Kawagishi *et al.*, 1988a; Mizushina *et al.*, 1998) demonstraram efeito inibidor do cerevisterol sobre a DNA polimerases. Outros derivados do ergosterol, como o 4-hidroxi-17-metil-incisterol também mostraram efeito inibidor sobre a DNA polimerase de forma dose-dependente (Togashi *et al.*, 1998).

Os efeitos antimutagênicos dos extratos de *agaricus* também foram acessados pelo método de Ames, quando o ácido linoleico foi testado diante do agente mutagênico benzo(a)pireno em *Salmonella*. O ácido linoleico é um ácido graxo poliinsaturado que representa 70-78 % dos lipídios totais isolados do *agaricus* com clorofórmio:metanol (2:1). Em extratos

clorofórmicos também foi isolado o ácido trans-11-octadecadienóico-3-hidroxi-cis-9 o qual exibiu atividade antibacteriana, mas não antimutagênica (Osaki *et al.*, 1994).

Entre as substâncias presentes no cogumelo do sol, apenas o ácido linoleico possui, individualmente, capacidade antimutagênica (Osaki *et al.*, 1994; Sorimachi *et al.*, 2001). Alguns dos compostos, como o ácido cis-5,8,11,14,17-eicosapentanóico (EPA), podem interagir com grupos –SH de algumas DNA polimerases, promovendo mudanças estruturais que aumentam o processo de reconstrução do DNA (Sasaki *et al.*, 1994).

Bellini *et al.* (2006) testaram vários extratos de agaricus (metanólico, hexânico e n-butanólico), que mostraram ausência de efeito clastogênico, mas mostraram anticlastogenia. Todos os extratos possuíram ação anticlastogênica, possuindo substâncias protetoras, mas em alguns casos demonstraram efeito genotóxico (n-butanólico) em relação ao metabolismo. Estes dados denotam cuidado no uso deste cogumelo pela população. A eficiência dos extratos aquosos é um aspecto importante da atividade protetora deste cogumelo, pois os humanos os consomem principalmente na forma de chá, sem o uso de solventes orgânicos ou outras formas de extração. Assim, os estudos sobre o agaricus estão apenas na infância e um melhor entendimento sobre os princípios ativos que o compõe e sua interação com os processos fisiológicos das células é necessário, assim como os mecanismos de formação de tumores.

3.1.4. Fatores que afetam a ação antitumoral do cogumelo do sol

As propriedades dos fungos devem ser consideradas juntamente com a forma de cultivo, estocagem e processamento (Mizuno, 1995), pois estes processos podem promover a perda ou degradação dos componentes ativos e então modificar seus efeitos antígenotóxicos, considerando variações geográficas, climáticas e outras intra-específicas que interferem nas respostas biológicas dos cogumelos (Chang, 1996).

Além dos fatores citados acima, o efeito antitumoral dos extratos de cogumelo do sol em diferentes estágios do desenvolvimento do fungo pode ser modificado pela idade do mesmo. Ao realizar pesquisas sobre o efeito da idade do fungo no potencial antitumoral do cogumelo do sol, Bellini *et al.* (2003) relataram que os extratos de fungos jovens são muito mais eficientes e produzem maior redução no dano do DNA. De acordo com esse pesquisador, os cogumelos maduros são menos eficientes, provavelmente devido à modificação de sua composição química durante o desenvolvimento.

4. Estudos relativos aos efeitos tóxicos do cogumelo do sol

O estudo mais completo sobre a toxicologia do cogumelo do sol a longo prazo foi realizado por Lee *et al.* (2007), que realizaram estudo de toxicologia crônica (2 anos) e oncogeneidade em ratos F344, através da introdução do cogumelo do sol seco na dieta das cobaias. O estudo revelou ausência de efeito carcinogênico. O NOAEL obtido foi de 25.000 ppm. O tratamento não provou modificações consistentes no consumo de alimentos, peso corporal e ganho de peso corporal. Nos machos foi observada menor incidência de mortalidade, catarata, letargia e exudato periocular escuro, o que pode ser atribuído aos efeitos antimutagênicos (Guterrez *et al.*, 2004), antioxidantes (Izawa e Inoue, 2004), antiinflamatórios (Lull *et al.*, 2005) e/ou a atividade imunoestimulatória (Kanemo *et al.*, 2004). O exame histopatológico não mostrou aumento na incidência de tumores. A mortalidade dos animais machos tratados foi significativamente menor do que os controles, entretanto a incidência de tumores malignos e benignos não foi diferente em relação ao controle. Em contraste, não foram encontradas diferenças nas mortalidades de fêmeas e não houve diferença na incidência de tumores benignos e malignos nas fêmeas. Enfim, não houve evidência de que o tratamento dietético do agaricus tenha aumentado a incidência de algum tipo de tumor, e o agaricus parece não ser carcinogênico para ratos.

5. CONCLUSÃO

Os estudos acerca das propriedades antitumorais do cogumelo do sol existentes até o momento permitem inferir que este possui em sua composição agentes potencialmente capazes de impedir o desenvolvimento de câncer (ergosterol, ácido linoleico e 1,6 β -D-glucana, por exemplo), e em alguns casos podem agir diretamente sobre os tumores, impedindo seu crescimento, enquanto estudos toxicológicos mostram baixa toxicidade deste fungo. Dentre as propriedades farmacológicas atribuídas a esses agentes pode-se citar seus efeitos citotóxicos, anti-carcinogênicos, antimutagênicos e antígenotóxicos. Estes compostos podem gerar uma grande quantidade de agentes terapêuticos comerciais contra o câncer em um futuro próximo, entretanto persiste a necessidade de realização de novos estudos que elucidem a exata composição do cogumelo do sol e o exato mecanismo de ação farmacológica antitumoral de seus componentes.

6. REFERÊNCIAS

- Barbisan, F.L.; Miyamoto, M.; Scolastici, C.; Salvadori, D.M.F.; Ribeiro, L.R.; Eira, A.F.; Camargo, J.L.V.; Influence of aqueous extract of *Agaricus blazei* on rat liver toxicity induced by different doses of diethylnitrosamine, *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 25–32 (2002).
- Bellini, M.F.; Giacomini N.L.; Eira A.F.; Ribeiro, L.R.; Mantovani, M.S.; Anticlastogenic effect of aqueous extracts of *Agaricus blazei* on CHO-k1 cells, studying different developmental phases of the mushroom, *Toxicology in Vitro*, 17, 465-469 (2003).
- Bellini, M.F.; Angeli, J.P.F; Matuo, R.; Terezan, A.P.; Ribeiro, L.R.; Mantovani, M.S.; Antigenotoxicity of *Agaricus blazei* mushroom organic and aqueous extracts in chromosomal aberration and cytokinesis block micronucleus assays in CHO-k1 and HTC cells; *Toxicology in Vitro*, 20, 355-360 (2006).
- Chang, R.; Functional of edible mushrooms, *Nutrition Reviews*, 54, 91-93 (1996).
- Chang, H.L.; Chao, G.R.; Chen, C.C.; Mau, J.L; Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Antrodia camphorata* and *Cordyceps militaris* mycelia, *Food Chemistry*, 74, 203–207 (2001).
- Delmanto, R.D.; de Lima, P.L.A.; Suguia, M.M.; Salvadori, D.M.F.; da Eira, A.F.; Speit, G.; Ribeiro, L.R.; Antimutagenic effect of *Agaricus blazei* Murrill mushroom on the genotoxicity induced by cyclophosphamide, *Mutation Research*, 496, 15–21.(2001).
- Ernest, E.; Cassileth, B.R.; How useful are unconventional cancer treatments? *European Journal of Cancer*, 35, 1608–1613 (1999).
- Fujimiya, Y.; Suzuki, Y.; Oshiman, K.; Kobori, H.; Morigushi, K.; Nakashima, H.; Matumoto, Y.; Takahara, S.; Ebina, T.; Katakura, R.; Selective tumoricidal effect of soluble proteoglycan extracted from the basidiomycete *Agaricus blazei* Murrill, mediated via natural killer cell activation and apoptosis, *Cancer Immunology and Immunotherapy*, 46, 147–159 (1998).
- Guterrez, Z. R.; Mantovani, M.S.; Eira, A.S.; Ribeiro, L.R.; Jordão, B.Q.; Variation of the antimutagenicity effects of water extracts of *Agaricus blazei* Murrill in vitro, *Toxicology in Vitro*, 18, 301-309 (2004).
- Ito, H.; Amano, H.; Noda, H.; Inhibitory action of a (1-6)- β -glucan-protein complex (FIII-2b) isolated from *Agaricus blazei* Murrill (“Himematsutake”) on Meth A Wbrosarcoma bearing mice and its antitumor mechanism, *Japan Journal of Pharmacology*, 66, 265–271 (1994).
- Ito, H.; Shimura, K.; Itoh, H.; Kawade, M.; Antitumor effects of a new Polysaccharide–Protein Complex (ATOM) prepared from *Agaricus blazei* (Iwade Strain 101) “Himematsutake” and its mechanisms in tumor-bearing mice, *Anticancer Research*, 17, 277–284 (1997).
- Izawa, S. e Inoue, Y.; A screening system for antioxidants using thioredoxin-deficient yeast: discovery of thermostable antioxidant activity from *Agaricus blazei* Murrill, *Applied Microbial and Cell Physiology*, 64, 537–542.(2004).
- Kaneno, R.; Fontanari, L.M.; Santos, S.A.; Di Stasi, L.C.; Filho, E.R.; 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 and Chemical Toxicology*, 42, 909–916 (2004).
- Kawagishi, H.; Katsumi, R.; Sazama, T.; Mizuno, T.; Hagiwara, T.; Nakamura, T.; Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*, *Phytochemistry*, 27, 51–58 (1988a).
- Kawagishi, H.; Nomura, A.; Yumen, T.; Mizuno, T.; Hagiwara, T.; Nakamura, T.; *Carbohydrate Research*, 183, 1X-154 (1988b).
- Kawagishi, H.; Inagaki, R.; Kanao, T.; Mizuno, T.; Shimura, K.; Ito, H.; Hagiwara, T.; Nakamura, T.; Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies, *Carbohydrate Research*, 186, 267-273 (1989).
- Kawagishi, H.; Kanao, T.; Inagaki, R.; Mizuno, T.; Shimura, K.; Ito, H.; Hagiwara, T.; Nakamura, T.; Formolysis of a potent antitumor (1,6)-b- β -glucan-protein complex from *Agaricus blazei* fruiting bodies and antitumor activity of the resulting products, *Carbohydrate Polymers*, 12, 393-403 (1990).
- Klurfeld, D.M.; Dietary fiber-mediated mechanisms in carcinogenesis, *Cancer Research*, 52, 2055–2059 (1992).
- Kuroda, Y.; Jain, A.K.; Tezuka, H.; Kada, T.; Antimutagenicity in cultured mammalian cells, *Mutation Research*, 267, 201–209 (1992).
- Lee, I.P.; Kang, B.H.; Roh, J.K.; Kim, J.R.; Lack of carcinogenicity of lyophilized *Agaricus blazei* Murill in a F344 rat two year bioassay, *Food and Chemical Toxicology*, *In Press*, 2008.
- Lohman, P.H.M.; Gentile, J.M.; Gentile, G.; Ferguson, L.R.; Antimutagenesis/anticarcinogenesis screening, methods and biomarkers, *Mutation Research*, 496, 1–4 (2001).
- Luiz, R.C.; Jordão, B.Q.; Eira, A.F.; Ribeiro, L.R.; Mantovani, M.S.; Mechanism of anticlastogenicity of *Agaricus blazei* Murill mushroom organic extracts in wild type CHO (K₁) and repair deficient (xrs5) cells by chromosome aberration and sister chromatid exchange assays, *Mutation Research*, 528 75-79 (2003).
- Lull, C.; Wichers, H.J.; Savekoul, H.E.J.; Anti-inflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites, *Mediators of Inflammation* 2, 63–80 (2005).
- Menoli, R.C.N.; Mantovani, M.S.; Ribeiro, L.R.; Speit, G.; Jordão, B.Q.; Antimutagenic effects of the mushroom *Agaricus blazei* Murrill extracts on V79 cells, *Mutation Research*, 496, 5–13 (2001).
- Mizuno, T.K.; *Agaricus blazei* Murill: Medicinal and Dietary Effects, *Food Reviews International*, 11, 167–172 (1995).
- Mizuno, T.; Medicinal properties and clinical effects of culinary/medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murrill stimulate (Agaricomycetideae), *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 4, 312–399 (2002).
- Mizushima, Y.; Hanashima, L.; Yamaguchi, T.; Takemura, M.; Sugawara, F.; Saneyoshi, M.; Matsukage, A.; Yoshida, S.; Sakaguchi, K.; A mushroom fruiting body-inducing substance inhibits activities of replicate DNA polymerases, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 249, 17–22 (1998).

- Oliveira, J.; Martins, J.; Jordão, B.Q.; Ribeiro, L.R.; Ferreira, A.; Mantovani, M.S.; Anti-genotoxic effect of aqueous extracts of sun mushroom (*Agaricus blazei* Murill lineage 99/26) in mammalian cells in vitro, *Food and Chemical Toxicology*, 40,1775-1780 (2002).
- Osaki, Y.; Kato, T.; Yamamoto, K.; Okubo, J.; Miyazaki, T.; Antimutagenic and bactericidal substances in the fruit body of a basidiomycete *Agaricus-blazei*, *Yakugaku Zasshi*, 114, 342–350 (1994).
- Pinheiro, F.; Faria, R.R.; Camargo, J.L.V.; Spinardi-Barbisan, A.L.T.; Eira, A.F.; Barbisan, L.F.; Chemoprevention of preneoplastic liver foci development by dietary mushroom *Agaricus blazei* Murrill in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, 41, 1543-1550 (2003).
- Sasaki, Y.F.; Sakaguchi, M.; Tamagishi, T.; Yamada, H.; Shihasu, Y.; Bio-antitumor effects of unsaturated fatty acids included in fish oil—docosahexaenoic acid, docosapentaenoic acid, and eicosapentaenoic acid—in cultured Chinese hamster cells, *Mutation Research*, 320, 9–22 (1994).
- 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* Murrill fractions in vitro, *Cell Structure and Function*, 26, 103–108 (2002).
- Sorimachi, K.; Ikehara, Y.; Maezato, G.; Okubo, A.; Yamazaki, O.; Akimoto, K.; Niwa, A.; Inhibition by *Agaricus blazei* Murill fractions of cytopathic effect induced by western equine encephalitis (WEE) virus on VERO cells in vitro, *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 65 ,1645–1647 (2001).
- Takaku, T.; Kimura, Y.; Okuda, H.; Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murill and its mechanism of action, *Journal of Nutrition*, 131, 1409–1413 (2001).
- Takasaburo, E.; Yoshiaki, F.; Antitumor effect of peptide-glucan preparation extracted from *Agaricus blazei* in a double-grafted tumor system in mice, *Biotherapy Dordrecht*, 11, 259–265 (1998).
- Togashi, H.; Mizushima, Y.; Takemura, M.; Sugawara, F.; Koshino, H.; Esumi, Y.; Uzawa, J.; Kumagai, H.; Matsokage, A.; Yoshida, S.; Sakaguchi, K.; 4-hydroxy-17methylincisterol, an inhibitor of DNA polymerase alpha activity and the growth of human cancer cells in vitro, *Biochemical Pharmacology*, 56, 583–590 (1998).
- Wasser, S.P.; Weis, A.L.; Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective, *Critical Reviews in Immunology*, 19, 65–96 (1999).
- Wasser, S.P.; Review of medicinal mushroom advances Good news from old allies, *HerbalGram*, 56, 28–33 (2002).