

Avaliação do efeito anticarcinogênico do cogumelo do sol (*Agaricus blazei*), por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*warts*) em *Drosophila melanogaster*

Effect of anticarcinogenic sun mushroom (Agaricus blazei) by means of the test for clones of epithelial tumors (warts) in Drosophila melanogaster

Camilla Rivera Ribeiro

Graduanda do curso de Fisioterapia (UNIPAM).

E-mail: kmillarivera2@hotmail.com

Nayane Moreira Machado

Professora orientadora (UNIPAM).

E-mail: nayane@unipam.edu.br

Resumo: O cogumelo *Agaricus blazei* é um composto nativo do Brasil, conhecido popularmente por "Cogumelo do Sol". Atualmente, é consumido devido ao seu valor medicinal, ação protetora e fortalecedora do sistema imunológico e ação anticancerígena. O objetivo deste estudo foi avaliar possíveis efeitos carcinogênicos e/ou anticarcinogênicos do cogumelo através do teste *Warts* em *Drosophila melanogaster*. Os resultados mostraram que o cogumelo apresentou propriedade anticarcinogênica, visto que houve diferença, estatisticamente significativa ($p < 0,05$), na frequência de tumores nas concentrações testadas de cogumelo (15,63; 31,25; 62,5 mg/mL) associado com DXR, quando comparado ao controle positivo. Além disso, o cogumelo não apresentou potencial cancerígeno, visto que não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações testadas de cogumelo isolado (15,63; 31,25; 62,5 mg/mL), quando comparado com o controle negativo. Sendo assim, é possível dizer que, nas presentes condições experimentais, o cogumelo não induziu a ocorrência de tumores em *D. melanogaster*. Além disso, apresentou efeito anticarcinogênico, reduzindo a frequência de tumores.

Palavras Chave: *Agaricus blazei*. Anticarcinogênico. *Drosophila melanogaster*.

Abstract: The mushroom *Agaricus blazei* is a compound native to Brazil, popularly known as "Mushroom of the Sun". Currently, it is consumed due to its medicinal value, protective action and strengthening of the immune system and anticancer action. The aim of this study was to evaluate possible carcinogenic and / or anticarcinogenic effects of this mushroom through *Warts* test in *Drosophila melanogaster*. The results show that the mushroom presented anticarcinogenic property, since there was statistically significant difference ($p < 0.05$), In the frequency of tumors at the tested concentrations of mushroom (15,63; 31,25; 62.5 mg / ml) associated with DXR, when compared to the positive control. Furthermore, the mushroom showed no carcinogenic potential, whereas there was no statistically significant difference in concentrations of isolated mushroom (15,63; 31,25; 62.5 mg / ml), when compared to the negative control. Therefore, it is possible to say that, in the present experimental conditions, the

mushroom did not induce the occurrence of tumors in *D. melanogaster*. In addition, it presented anticarcinogenic effect, reducing the frequency of tumors.

Keywords: *Agaricus blazei*. Anticarcinogenic. *Drosophila melanogaster*.

1 INTRODUÇÃO

O estudo da genética tornou-se essencial para entendermos a fisiopatogenia das doenças, visto que a genética nos fornece base para a compreensão da constituição e função biológica do organismo, contribuindo para um maior conhecimento dos processos patogênicos (LOURO *et al.*, 2002, *apud* MACHADO; NEPOMUCENO, 2010). A genética estuda os genes em todos os níveis, desde as moléculas até as populações, e foi criada na década de 1860 com o trabalho de Gregor Mendel, que propôs a existência dos genes (GRIFFITHS *et al.*, 1998).

Ao passar da vida, o DNA sofre alterações denominadas de mutações, que podem ser causadas por erros durante a duplicação do DNA, na divisão celular. O surgimento de mutações ocorre em todos os seres vivos, sendo um processo fundamental para a evolução e a diversidade das espécies. Muitas mutações não implicam mudanças detectáveis na atividade metabólica da célula ou do organismo e, portanto, passam despercebidas. Outras mutações podem determinar a morte celular e, por consequência, não são, também, detectáveis. Assim, apenas um pequeno número de mutações que ocorrem em genes específicos pode determinar vantagens e um crescimento desordenado de células (RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003).

As células em crescimento de clones neoplásicos acumulam uma série de mudanças genéticas e epigenéticas que causam modificações na atividade gênica, alterando seu fenótipo. O câncer começa, então, em uma célula ou em uma população de células que despreza o controle normal de proliferação (PONDER, 2001).

O câncer pode ser definido como um conjunto de mais de 100 doenças, no qual tem em comum um crescimento desordenado e maligno de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo (ROMANO, 2014).

De acordo com o INCA e com o Ministério da Saúde (2011), o câncer é a segunda causa de morte no país, e as causas são variadas, podendo ser uma mistura de combinações de componentes do meio ambiente e de alterações genéticas que ocorrem nos tecidos. A contribuição exclusivamente genética é responsável por apenas 5% de todos os tumores. A fração restante pode ser atribuída a fatores ambientais “externos” que atuam em conjunto com a suscetibilidade genética (LOURO *et al.*, 2002, *apud* MACHADO; NEPOMUCENO, 2010).

É possível identificar, por meio de estudos epidemiológicos, associações relevantes entre alguns padrões alimentares observados em diferentes regiões do globo e a prevalência de câncer (GARÓFOLO *et al.*, 2004).

Alguns compostos podem induzir a ocorrência da carcinogênese, e outros são capazes de impedir ou inibir, como mostram pesquisas realizadas com o cogumelo comestível *Agaricus Blazei* (ZANELLA, 2004).

O cogumelo *Agaricus blazei* Muril é nativo do Brasil e é conhecido popularmente por “Cogumelo do Sol” (BETTI; IGNÁCIO, 2013). De acordo com Singi *et al.*, (2006),

esse cogumelo é altamente consumido devido ao seu valor medicinal, à sua ação protetora e fortalecedora do sistema imunológico, à sua ação anticancerígena e à sua capacidade de controle do diabetes.

Alguns estudos coordenados em ratos envolvendo o cogumelo do sol têm demonstrado que seu consumo pode reduzir o aparecimento de focos tumorais (ZANELLA, 2004). Extensas investigações estão em andamento, mas ainda não há um consenso sobre os benefícios reais na redução dos focos tumorais, relacionados especificamente à metodologia e doses utilizadas. Diante do exposto, o objetivo principal deste trabalho foi verificar o possível efeito carcinogênico e/ou anticarcinogênico do cogumelo do sol (*Agaricus blazei*), por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*warts*) em *Drosophila melanogaster*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 COGUMELO DO SOL (*AGARICUS BLAZEI*)

O cogumelo *Agaricus blazei* Muril é uma espécie de fungo, e pode ser conhecido no mundo como Cogumelo do Sol, Cogumelo Princesa, Cogumelo Piedade ou *Agaricus brasiliensis* (GONZAGA, 2006). Ele pertencente à família *Agaricaceae*, da ordem *Agaricales*, do gênero *Agaricus* e da espécie *Agaricus blazei* (SHIBATA, DEMIATE, 2003), e é conhecido como Cogumelo do Sol devido à sua característica de crescimento e desenvolvimento em campos abertos e ensolarados (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

O Brasil é o maior produtor mundial desse cogumelo, devido a este ser uma espécie nativa (STEFANELLO, 2013), e seu consumo cresce cada vez mais devido à descoberta de seu alto valor nutritivo (SHIBATA; DEMIATE, 2003).

Esse cogumelo é de ocorrência natural nas regiões serranas da Mata Atlântica do sul do Estado de São Paulo e foi descoberto na cidade de Piedade em 1960. Em 1965, foi enviado para o Japão para a realização de estudos sobre suas propriedades medicinais. E, a partir de testes em cobaias, foram demonstradas suas propriedades antitumorais (LEMOS, 2009).

Devido ao crescente interesse pelas propriedades dos cogumelos, vários estudos vêm sendo realizados apontando cada vez mais os benefícios desses fungos. Algumas pesquisas mostraram a relação entre o cogumelo e o tratamento do câncer. Essa relação se deve ao alimento ser rico em beta-glucanas, especialmente a lentinana, a qual é responsável por estimular o sistema imunológico, principalmente as células natural killer, que são capazes de destruir células cancerígenas. O cogumelo do sol se destaca entre os demais cogumelos por possuir maiores quantidades de beta-glucanas. Além de rico em beta-glucanas, esse cogumelo apresenta ação antioxidante e auxilia na redução do colesterol e no controle de diabetes (STUPIELLO, 2013).

Além disso, na *Universidade Católica de Seul*, foi realizado um estudo com 100 mulheres que tinham câncer de útero, ovário e endométrio. Após três ciclos de quimioterapia, perceberam que a atividade das células de defesa era maior no grupo de mulheres que ingeriram doses do cogumelo *Agaricus blazei* (KAUFMAN, 2006).

Assim, o cogumelo do sol tem sido uma substância altamente testada em diversos experimentos, demonstrando que não possui apenas um, mais vários efeitos benéficos.

2.2 CÂNCER

O organismo humano é composto por milhões de células que se duplicam através de um processo denominado divisão celular. Em condições normais, esse sistema é ordenado e controlado, e é responsável pela formação, pelo crescimento e pela regeneração dos tecidos saudáveis do corpo (FERNANDES; MELLO, 2008, *apud* SILVA, 2011).

O ciclo celular é uma série de eventos que ocorre desde um estágio em uma célula até o estágio equivalente em uma célula filha. O ciclo é dividido em períodos, sendo eles a mitose ou meiose e a interfase. A mitose é a multiplicação nuclear de células somáticas do corpo de eucariontes, que não são destinadas a se tornarem células sexuais. A meiose é a multiplicação nuclear, em que células especiais são destinadas a produzir gametas. E a interfase é o período entre as mitoses (GRIFFITHS *et al.*, 1998).

Quando uma célula ou um grupo de células de algum órgão ou tecido começa a crescer fora de controle, podendo invadir outros tecidos, essa célula se torna cancerosa (Instituto Oncoguia, 2014).

O câncer é definido como uma doença caracterizada pela multiplicação e disseminação fora de controle de formas anômalas de células do organismo (RANG *et al.*, 2003). É um exemplo de doença genética somática e, embora alterações somáticas não sejam passadas para a geração seguinte, várias predisposições ao câncer são herdadas, como genes anormais (GRIFFITHS *et al.*, 1998).

Segundo a ABRALE (2013), o câncer é considerado uma doença de diversos estágios, e sua formação se dá por um processo chamado de carcinogênese. O processo de carcinogênese ocorre lentamente, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa prolifere e dê origem a um tumor maligno visível. Esse processo passa por estágios antes de chegar ao tumor maligno, sendo eles o estágio de iniciação, o estágio de promoção e o estágio de progressão (INCA; MINISTÉRIO DA SAÚDE; CONTAPP, 1996).

O estágio de iniciação é a primeira etapa da carcinogênese e nela os genes sofrem ação dos agentes cancerígenos. Já no estágio de promoção, os agentes oncopromotores atuam na célula já alterada. O terceiro e último estágio é o de progressão, caracterizado pela multiplicação descontrolada e irreversível da célula (INCA; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Como citado anteriormente, em condições normais, o ciclo de proliferação celular é severamente controlado, com o intuito de que as células constituam comunidades organizadas. Porém, as células cancerígenas não se enquadram a esse esquema de cooperação por serem células com o DNA danificado, escapando dos mecanismos de controle do ciclo celular. Os genes que participam da formação de tumores são os mesmos envolvidos com o controle do ciclo celular, com a reparação do

DNA danificado e com a apoptose em células normais. São eles: os genes supressores de tumores (anti-oncogenes) e os proto-oncogenes (LOPES; OLIVEIRA; PRADO, 2002).

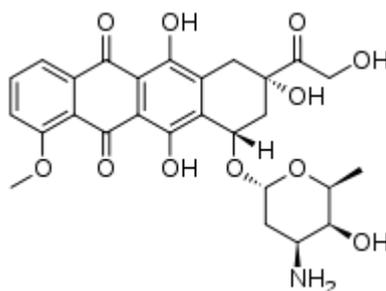
Os tumores estão associados a mutações dominantes em proto-oncogenes e a mutações recessivas em genes supressores de tumores. Os proto-oncogenes são mutados de tal forma que a proteína que eles codificam é “ativada” nas células tumorais, fazendo com que a célula se comporte como se estivesse sempre recebendo um sinal para proliferar, mesmo quando não está. Nos supressores de tumor, a mutação inativa proteínas que contribuem para inibição da proliferação celular (GRIFFITHS *et al.*, 1998).

Ainda que as células disponham de mecanismos eficientes de reparo que removam a maior parte de lesões integradas em seu DNA, uma pequena parte delas não chega a ser reparada ou é reparada de forma inadequada, o que leva ao surgimento das mutações (AMENDOLA; VIEIRA, 2005).

2.3 DOXORRUBICINA

A doxorubicina (figura 1) é um composto derivado das antraciclinas, isoladas na década de 1960 a partir da bactéria *Streptomyces peucetius*. A partir desse período, tem sido usada como quimioterápico devido ao seu amplo efeito. Tudo ocorre devido às antraciclinas causarem danos irreversíveis às células tumorais por se intercalarem no DNA, inibindo a síntese de proteínas e produzindo espécies reativas de oxigênio, causando a morte celular (SILVEIRA, 2012).

Figura 1: Fórmula estrutural da doxorubicina (C₂₇H₂₉NO₁₁).



Fonte: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Doxorrubicina>>. Acesso em: 18 maio 2015.

As neoplasias mais frequentemente tratadas com a doxorubicina são os linfomas, os sarcomas osteogênicos, o carcinoma testicular, o hemangiossarcoma, o carcinoma de tireoide, os carcinomas mamários, o carcinoma de células escamosas e outros tumores sólidos (NEUWALD, 2009).

A DXR é ativa durante todo o ciclo celular, incluindo a interfase. Esse fármaco provoca efeitos antiproliferativos nos tecidos tumorais (GUIMARÃES, 2009). No entanto, seu uso pode gerar alterações indesejáveis, como o desenvolvimento de cardiomiopatia por doxorubicina. Alguns fatores de risco para desenvolvimento dessa alteração são idade maior que 70 anos, quimioterapia combinada, doença cardíaca prévia, hipertensão arterial sistêmica, entre outros. O diagnóstico final é realizado por meio de biópsia miocárdica com achado de lesões características da toxicidade

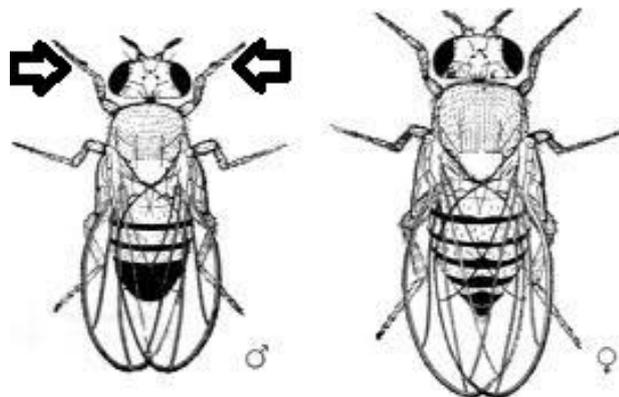
miocárdica por doxorrubicina: perda de miofibrilas e vacuolização do citoplasma (YU *et al.*, 2005).

Além disso, é importante ressaltar que a quimioterapia é o método mais comum utilizado no tratamento antineoplásico. Seu objetivo é eliminar as células que compõem o tumor, porém a quimioterapia do câncer utiliza fármacos inespecíficos como a doxorrubicina. Essas drogas não são capazes de atingir somente as células tumorais, pois também atingem diretamente vários tipos celulares de multiplicação rápida como células gastrointestinais, capilares e precursores sanguíneos da medula óssea. Devido a isso, essas células podem entrar num processo de instabilidade genômica que tende a culminar no aparecimento de um tumor secundário (GALIOTTO, 2007, *apud* MACHADO; NEPOMUCENO, 2012).

2.4 WARTS (WTS) – TESTE PARA DETECÇÃO DE TUMOR EPITELIAL EM *DROSOPHILA MELANOGASTER*

A *Drosophila melanogaster* (figura 2), conhecida popularmente como mosca da fruta (FREITAS; SILVA; LOUREIRO, 2013), é um ser eucarionte, da ordem Díptera, com $2n = 8$ cromossomos, sendo três pares de cromossomos autossomos e um par de cromossomos sexual (FONSECA; PEREIRA, 2004).

Figura 2: Casal de moscas de *Drosophila melanogaster*. À esquerda está o macho, que apresenta pente sexual (indicado pelas setas), e à direita está a fêmea que não apresenta pente sexual.



Fonte: <<http://biocientistas.blogspot.com.br/2007/12/drosophilas-melanogaster.html>>. Acesso em: 13 fev. 2015.

A mosca tem se tornado um organismo chave da pesquisa em genética, sendo utilizada como modelo biológico nos mais variados testes. Seu tamanho reduzido, seu dimorfismo sexual, seu ciclo de vida curto, sua grande fecundidade e seu número reduzido de cromossomos, além de ser um organismo de fácil cultivo em laboratório, com poucas exigências nutricionais e baixo custo, a torna um excelente organismo teste (IBMC; INEB, 2008; GOMES, 2001).

A descoberta de genes-mestres presentes na *D. melanogaster* e o fato de que a organização segmentar do corpo da *Drosophila* e os elementos característicos de cada

segmento podem ser observados em muitos grupos de animais, inclusive nos mamíferos, possibilitaram pesquisas sobre genes com funções parecidas nos demais animais pertencentes à classe Bilatéria. Mais surpreendente ainda foi a descoberta de que não somente existem homólogos desses genes homeóticos em quase todos os grupos de animais, mas que também a sua organização gênica foi mantida ao longo da evolução dos grupos (HARTFELDER, 2006).

A conservação evolutiva de genes supressores de tumor entre *Drosophila* e mamíferos mostra uma importante ferramenta na indução e no desenvolvimento de tumores no disco imaginal das células da mosca, possibilitando, assim, a compreensão do desenvolvimento de cânceres em humanos (EEKEN *et al.*, 2002).

Um dos genes envolvidos na regulação do ciclo celular de *Drosophila* é *WTS* (*warts*), o qual é homólogo ao *LATS1*, gene supressor de tumores em mamíferos (EEKEN *et al.*, 2002).

O marcador *wts* é uma mutação recessiva letal em homozigose nos zigotos. Por apresentar capacidade letal, é mantido na linhagem estoque com a presença de um balanceador cromossômico (TM3). Por meio do cruzamento entre linhagens *wts/TM3* e *multiple wing hairs (mwh/mwh)*, são adquiridas larvas heterozigotas (*wts/+*). A perda da heterozigose nas células do disco imaginal ocasiona a formação de clones homozigotos (que é viável em conjuntos de células isoladas) na larva, que manifesta como tumores na mosca adulta (SIDOROV *et al.*, 2001).

Segundo Nishiyama *et al.* (1999), o gene *warts (wts)* foi identificado em *Drosophila melanogaster* e atua como um supressor de tumor na mosca, sendo que a deleção desse gene leva à formação de clones de células que geram “verrugas” nas pernas e no corpo. Com isso, o gene é considerado importante no controle da morfogênese e proliferação celular da mesma.

3 METODOLOGIA

3.1 AGENTES QUÍMICOS

3.1.1 Obtenção do *Agaricus blazei muril*

O cogumelo do sol utilizado no presente estudo é um alimento de lote AD14, produzido pela Mediervas Nutracêuticos, Produtos Farmacêuticos LTDA ME-SOROCABA, São Paulo, Brasil. Cada frasco-ampola contém 60 cápsulas de 250 mg de cogumelo do sol. Para o tratamento, foram utilizadas três diferentes concentrações (15,63; 31,25; 62,5 mg/mL).

3.1.2 Doxorubicina

A doxorubicina utilizada neste experimento como controle positivo foi diluída em água de osmose reversa. Foi fabricada por Actavis Italy S.P.A Nerviano, Milão-Itália. Registro MS – 1.0216.0165.002-4. Produzida pelo laboratório Pfizer. É conhecida comercialmente por Adriblastina. Cada frasco contém 10mg do composto sob forma de pó liofilizado, com peso molecular de 580,0 e fórmula $C_{27}H_{29}NO_{11}$. O produto foi

armazenado em temperatura ambiente (entre 15°C e 30°C), protegido da luz, evitando o calor excessivo (acima de 40°C). A concentração utilizada foi de 0,4 mM.

3.2 TESTE PARA DETECÇÃO DE CLONES DE TUMORES EPITELIAIS EM *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Na realização do teste *wts* (*warts*), foram utilizadas duas linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster* (*wts* e *mwh*) portadoras dos marcadores genéticos *warts* (*wts*, 3-100) e *multiple wing hairs* (*mwh*, 3-0,3).

Os estoques dessas linhagens são cultivados no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, onde são mantidas em frascos com meio de cultura padrão e sob condições ideais de temperatura e fotoperíodo que possibilitam a conservação e a manutenção das linhagens.

3.2.1 Cruzamento

A realização dos cruzamentos foi feita após a coleta de machos *mwh/mwh* e de fêmeas virgens *wts/TM3* que foram colocados juntos em frascos contendo meio de cultura próprio para postura, onde as fêmeas depositaram seus ovos.

As larvas desse cruzamento foram tratadas com os compostos químicos de interesse da presente pesquisa. No entanto, foram analisadas somente as moscas que não apresentaram o balanceador cromossômico (*TM3, Sb1*), ou seja, somente as moscas de pelos longos e finos foram analisadas.

3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Após 48±4 horas, as larvas foram lavadas com água destilada e coletadas. Larvas de 2º estágio descendentes desse cruzamento foram colocadas em frascos de vidro contendo 1,5g de meio alternativo (purê de batatas instantâneo) e 5ml das diferentes concentrações de cogumelo do sol (15,63; 31,25; 62,5 mg/mL), associadas ou não à doxorrubicina. As concentrações associadas à doxorrubicina foram feitas em sistema de co-tratamento. Para controle positivo, foi utilizada a doxorrubicina, e, para o controle negativo, foi utilizada água osmose reversa. Nessa etapa do tratamento, as larvas de 2º estágio foram expostas aos compostos testados por um período de, aproximadamente, 48 horas, até ocorrer o estágio de pupa.

3.4 ANÁLISE DAS MOSCAS

Após sofrerem metamorfose, os indivíduos adultos foram transferidos para frascos contendo etanol 70% para a conservação do corpo da mosca.

Para a análise das moscas, foram utilizadas lupas estereoscópicas, pinças entomológicas e pinceis. A localização dos tumores foi observada e registrada em um diagrama padrão do corpo da mosca, que separou quantitativamente a incidência de tumores nas regiões do olho, cabeça, asa, corpo, perna, halteres, e o total por mosca, em cada concentração testada.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A diferença estatística entre as frequências de tumor das concentrações testadas e o controle positivo e o controle negativo foi calculada usando o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney, empregando o nível de significância $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar a atividade carcinogênica do cogumelo do sol nas concentrações de 15,63 mg/mL, de 31,25 mg/mL e de 62,5 mg/mL, os resultados demonstraram que não houve aumento estatisticamente significativo nas frequências de tumores nas três concentrações testadas de cogumelo do sol, quando comparados com o controle negativo. Também pode ser observado que, à medida que a concentração de cogumelo do sol aumenta, o número total de tumores diminui (Tabela 1). Sendo assim, o cogumelo não apresentou potencial cancerígeno.

Tabela 1- Frequência de tumores encontrados nos diferentes segmentos do corpo de *D. melanogaster* tratadas com diferentes concentrações de cogumelo do sol (15,63 mg/mL; 31,25 mg/mL e 62,5 mg/mL), controle positivo (DXR 0,4mM) e controle negativo.

Concentrações	Indivíduos (moscas)	Tumores encontrados						Total	Frequência
		Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halteres		
Controle negativo	200	1	7	11	3	2	0	24	0,12
Controle positivo (0,4 mM)	200	79	69	303	241	80	28	800	4,0*
Cog 15,63	200	4	6	12	2	4	2	30	0,15
Cog 31,25	200	4	11	7	2	3	1	28	0,14
Cog 62,5	200	2	1	8	8	4	3	26	0,13

* Diferença estatisticamente significativa de acordo com o teste de Mann-Whitney. Níveis de significância: $\alpha = 0,05$, quando comparado com o controle negativo (água).

Cog, Cogumelo do sol; DXR, doxorubicina.

A Tabela 2 mostra a frequência de tumores observados nos descendentes heterozigotos de *Drosophila melanogaster*, tratados com diferentes concentrações de cogumelo do sol associado à doxorubicina. Pode-se observar, nessa tabela, uma redução, estatisticamente significativa nas frequências de tumores induzidos pela doxorubicina (0,4mM), quando as diferentes concentrações de cogumelo do sol (15,63 mg/mL; 31,25 mg/mL e 62,5 mg/mL) foram associadas ao DXR. Pode-se observar que, à medida que a concentração de cogumelo do sol associado ao DXR aumenta, o número total de tumores diminui (Tabela 2). Sendo assim, na presente condição experimental, o cogumelo apresentou propriedade anticarcinogênica.

Tabela 2- Frequência de tumores encontrados nos diferentes segmentos do corpo de *D. melanogaster* tratadas com diferentes concentrações de cogumelo do sol associado à doxorrubicina, controle positivo (DXR 0,4Mm) e controle negativo.

Concentrações	Indivíduos (moscas)	Tumores encontrados						Total	Frequência
		Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halteres		
Controle negativo	200	1	7	11	3	2	0	24	0,12*
Controle positivo (0,4 mM)	200	79	69	303	241	80	28	800	4,0
Cog 15,63+ DXR	200	21	17	164	76	55	13	346	1,73*
Cog 31,25+ DXR	200	19	8	180	44	72	18	341	1,70*
Cog 62,5+ DXR	200	4	9	134	33	39	9	228	1,14*

* Diferença estatisticamente significativa de acordo com o teste de Mann-Whitney. Níveis de significância: $\alpha = 0,05$, quando comparada com o controle positivo (DXR).

Cog, cogumelo do sol; DXR, doxorrubicina.

Os resultados encontrados nesse estudo são semelhantes aos mostrados por Oliveira *et al.* (1999), que mostram que o cogumelo do sol é rico em polissacarídeos, que são substâncias com efeito antitumoral. Entre esses polissacarídeos, destacam-se: β -D-glucano, ácido α -D-glucano, ácido β -D-glucano e proteínas complexas de RNA. Essas substâncias, principalmente os beta-glucanos, são capazes de interagir com o sistema imunológico e regulá-lo conforme aspectos específicos, chamados de imunomoduladores (LANA, 2011).

A propriedade anticarcinogênica do cogumelo do sol, mostrada nos resultados do presente trabalho, também pode ser associada à pesquisa realizada por Rodrigues *et al.* (2003) que mostrou que o Cogumelo do Sol, preparado à temperatura ambiente, é capaz de diminuir a frequência de mutação espontânea em *Aspergillus nidulans*. Em tal pesquisa, não foi utilizado nenhum agente mutágeno, já que a análise foi feita em relação à mutação espontânea. Sendo assim, foi sugerida a possibilidade de uma ação do cogumelo sobre um ou mais sistemas de reparo de danos no DNA.

O que se observa na literatura para estudos realizados com cogumelo do sol é uma série de resultados que demonstram a atividade anticarcinogênica da substância, como mostrado por Ebina e Fugiiimiyma (1998), que analisaram o efeito antitumoral do cogumelo do sol através de extratos obtidos a partir do corpo de frutificação do cogumelo. Foi feito o tratamento em camundongos com um peptídioglucano extraído do corpo de frutificação do cogumelo. Esse princípio ativo apresentou efeito imunomodulador, ativando os macrófagos e neutrófilos e inibindo o crescimento do tumor.

Stupiello (2013) mostrou, por meio de seu estudo, que a eficácia do cogumelo no câncer ocorre devido ao alimento estimular o sistema imunológico, especialmente as células chamadas de natural killer. As células natural killer agem através da indução de apoptose. Isto é feito a partir de ligação a receptores de superfície nas células defeituosas ou injetando nelas enzimas proteolíticas que ativam a cascata das caspases, enzimas que desencadeiam a apoptose (JUNIOR, 2012).

O estudo realizado por Soares (2007) também pode ser associado ao presente trabalho por mostrar a atividade antioxidante encontrada no cogumelo *Agaricus blazei*. Seu estudo comparou a eficiência de diferentes solventes (etanol absoluto, soluções hidro-alcoólicas a 20, 50 e 70%, álcool de cereais a 25%, água fria e água a 60° C) na extração de compostos fenólicos com atividade antioxidante de basidiomas jovens de *Agaricus blazei*. Todas as soluções extratoras foram eficientes, podendo ser utilizadas para a obtenção de extratos com elevada atividade antioxidante, exceto o etanol absoluto. Logo, os resultados obtidos pelo presente autor confirmam a fonte de antioxidantes naturais presentes no Cogumelo do Sol.

5 CONCLUSÃO

De acordo com o teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*warts*) em *Drosophila melanogaster*, pode-se concluir que o cogumelo do sol, na presente condição experimental, não induziu a ocorrência de tumores.

Além disso, o cogumelo do sol no presente estudo diminuiu as frequências dos tumores, quando induzidos pela DXR. Isso mostra a necessidade de mais pesquisas sobre tal composto para determinar qual a melhor forma e dosagem necessária de cogumelo para a obtenção desses efeitos anticarcinogênicos.

REFERÊNCIAS

- AMENDOLA, Luíz; VIEIRA, Roberto. A contribuição dos genes BRCA na predisposição hereditária ao câncer de mama. *Revista Brasileira de Cancerologia*, Rio de Janeiro, v. 51, n. 4, p. 325-330, 2005.
- Associação Brasileira de linfoma e leucemia (ABRALE). *Câncer: estágios da doença*. Junho de 2013. Disponível em: <<http://www.abrale.org.br/pagina/estagios-da-doenca>>. Acesso em: 3 mar. 2015.
- BETTI, Graciele; IGNÁCIO, Zuleide. *Efeitos do cogumelo Agaricus blazei Murill sobre o tratamento e prevenção do câncer: Uma revisão da literatura*. UFFS – Universidade Federal da Fronteira Sul, 2013.
- EBINA, T.; FUGIIMIYMA, Y. *Antitumor effect of a peptide-glucan preparation extracted from Agaricus blazei in a double-graft tumor system in mice*. *Biotherapy*, Tokyo, v. 11, n. 4, p. 259-265, 1998.
- EEKEN, Jan; KLINK, Ilse; VEEN, Bert; PASTINK, Albert; FERRO, Wouter. Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor supressor gene wts. *Environ. Mol. Mutagen.*, v. 40, p. 277-282, 2002.
- FONSECA, Cristiane; PEREIRA, Denise. Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal. *Infarma*, v.16, n. 7-8, 2004.

FREITAS, Geisiely; SILVA, Gutierre; LOUREIRO, Larissa. *Experimento com moscas da fruta *Drosophila melanogaster**. Campo Grande, julho de 2013. Disponível em: <<http://www.trabalhosfeitos.com/ensaios/Experimento-Com-Moscas-Da-Fruta-Drosophila/46994634.html>>. Acesso em: 3 mar. 2015.

GARÓFOLO, Adriana; AVESANI, Carla; CAMARGO, Kátia; BARROS, Maria; SILVA, Sandra; TADDEI, José; SIGULEM, Dirce. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. *Revista de nutrição*, Campinas, vol. 17, n. 4, out./dez., 2004.

GOMES, Rui. *Protocolo: utilização de *Drosophila* em Genética: 1ª parte*. Biologias, Lisboa, v.1, 2001.

GONZAGA, Maria. *Agaricus blazei Muril: isolamento, caracterização estrutural e atividades biológicas dos polissacarídeos e/ou glicoconjugados presentes*. 2006. 155f. Tese (Doutorado em química orgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

GRIFFITHS, Anthony; WESSLER, Susan; LEWONTIN, Richard; CARROLL, Sean. *Introdução a Genética*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 856p.

GUIMARÃES, Luís. Efeito modulador do ômega-3 contra a genotoxicidade da doxorrubicina em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. *Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM: Perquirere*, Patos de Minas, vol. 6, pag. 45-54, outubro de 2009.

HARTFELDER, K. Genética do desenvolvimento e evolução dos grandes grupos de animais. *Genética na Escola*, v.1, n.2, p.93-100, 2006.

IBMC; INEB. *Estaleiro da ciência: guia prático*. Porto: Universidade do Porto, IBMC, INEB, 2008.

INCA- Instituto nacional de Câncer; MINISTÉRIO DA SAÚDE; CONTAPP- Coordenação nacional de controle e tabagismo. *Como é o processo de carcinogênese*. Rio de Janeiro, 1996. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=319>. Acesso em: 16 de fevereiro de 2015.

INCA- Instituto nacional de Câncer 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE. *ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer*. Rio de Janeiro, Agosto de 2011. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc_do_cancer.pdf>. Acesso em: 16 de fevereiro de 2015.

Instituto Oncoguia. *O que é câncer*. 12 de novembro de 2014. Disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/cancer/12/1/>>. Acesso em: 20 fev. 2015.

JUNIOR, Armando Miguel. *Sistema imunológico- célula natural killer (NK)*. 23 de novembro de 2012. Disponível em: <<http://www.medicinageriatrica.com.br/tag/celulas-natural-killer-nk/>>. Acesso em: 16 fev. 2016.

KAUFMAN, Dina. *O cogumelo do sol e a imunidade*. Novembro de 2006. Disponível em: <<http://dinakaufman.com/noticias-cientificas/o-cogumelo-do-sol-e-a-imunidade/>>. Acesso em: 19 fev. 2015.

LANA, José Fábio. *O poder de cura dos cogumelos medicinais*. Março de 2011. Disponível em: <<http://www.jmonline.com.br/novo/?noticias,22,ARTICULISTAS,42952>>. Acesso em: 19 jan. 2016.

LEMOS, Fernanda. *Elaboração e caracterização de produto análogo a hambúrguer de cogumelo *Agaricus brasiliensis**. 2009. 147f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

LOPES, Aline; OLIVEIRA, Andreza; PRADO, Camila. Principais genes que participam na formação de tumores. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, vol. 2, n. 2, 2002.

MACHADO, Nayane; NEPOMUCENO, Júlio César. *Ausência da atividade mutagênica de nanotubos de carbono de paredes múltiplas, funcionalizados, em células somáticas de *Drosophila melanogaster**. 2012. 58f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

MACHADO, Nayane; NEPOMUCENO, Júlio César. Efeito modulador da vitamina K contra a ação carcinogênica da doxorubicina, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. *Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM: Perquirere*, Patos de Minas, n. 7, vol. 1, pag. 180-193, agosto de 2010.

NEUWALD, Elisa Barp. *Avaliação Hematológica, bioquímica e eletrocardiográfica de cães com diferentes neoplasias tratados com doxorubicina*. 2009. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias na área de morfologia, cirurgia e patologia animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

NISHIYAMA, Yasuyuki; HIROTA, Toru; MORISAKI, Tetsuro; HARA, Toshihiro; MARUMOTO, Tomotoshi; LIDA, Shin-ichi; MAKINO, Keishi; YAMAMOTO, Hideyuki; HIRAOKA, Takehisa; KITAMURA, Nobuo; SAYA, Hideyuki. A human homolog of *Drosophila* warts suppressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. *Febs Letters*. v. 459, p. 159-165, 1999.

OLIVEIRA, Emilia; OLIVEIRA, Elias; LIMA, Luiz; BOAS, Eduardo. *Composição centesimal do cogumelo do sol (*Agaricus Blazei*)*. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS, III, 1999, Campinas – SP.

PONDER, Bruce A. J. Cancer genetics. *NATURE*, v. 411, p. 336-341, maio 2001.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P.K. *Quimioterapia do Câncer*. In: Farmacologia. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2003, cap. 50, p. 789-809.

RIBEIRO, Lucia; SALVADORI, Daisy; MARQUES, Edmundo. A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana. In: RIBEIRO, Lucia; MARQUES, Edmundo. *Mutagênese ambiental*. Canoas: ULBRA, 2003. cap. 1, p. 21-27.

RODRIGUES, SuzymeireBaroni; JABOR, Izabel Aparecida Soares; SILVA, Giuliani Grazyella Marques; ROCHA, Carmem Lucia de Mello Sartori Cardoso. Avaliação do potencial antimutagênico do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) no sistema meth G1 em *Aspergillus* (=Emericella) nidulans. *Maringá*, v. 25, no. 2, p. 513-517, 2003.

ROMANO, Ana. *Análise dos direitos sociais da pessoa portadora de neoplasia maligna (câncer)*. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso- TCC (Ensino superior em Direito), 2014. Disponível em:
<<http://anaaluizaromano.jusbrasil.com.br/artigos/120732766/analise-dos-direitos-sociais-da-pessoa-portadora-de-neoplasia-maligna-cancer>>. Acesso em: 5 mar. 2015.

SHIBATA, Cristina; DEMIATE, Ivo. Cultivo e análise da composição química do cogumelo do sol (*Agaricus Blazei* Murril). *UEPG- Ciências Biológicas e da Saúde*. v. 2, p. 21-32, Ponta Grossa, junho, 2003.

SIDOROV, R. A.; UGNIVENKO, E. G.; KHOVANOVA, E. M.; BELITSKY, G. A. Induction of tumor clones in *D. melanogaster wts/+* heterozygotes with chemical carcinogens. *Mutation Research*, v. 498, p. 181-191, 2001.

SILVA, Rosiane. *Efeito modulador do ômega -3 sobre a mutagenicidade e carcinogenicidade da doxorubicina em células somáticas de Drosophila melanogaster*. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em genética e bioquímica) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

SILVEIRA, Evanildo. Remédio e veneno: Composto usado para tratar câncer danifica células do coração. *Pesquisa FAPESP*. Ed. 192. Junho 2012.

SINGI, Glenan; DAMASCENO, Dênis; ANDRÉA, Éverton; ALEXANDRE, Giovana; SINGI, Marianne; ALVES, Lira; SIMÕES, Tiessa. Efeitos agudos da aplicação endovenosa do cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murill) sobre a pressão arterial média e a frequência cardíaca de ratos anestesiados. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, vol. 16, n.4, out./dez., 2006.

SOARES, Andreia Assunção. *Atividade antioxidante e compostos fenólicos do cogumelo Agaricus blazei Murrill*. 2007. Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas (mestrado em Biologia Celular) - CAPES, 2007.

STEFANELLO, Flávia. *Avaliação da atividade antioxidante de cogumelo do sol (Agaricus bazei Murril) e sua aplicação em lingüiça*. 2013. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

STUPPIELLO, Bruna. *Benefícios do cogumelo para a sua saúde*. 17 de dezembro de 2013. Disponível em: <<http://www.minhavidacom.br/alimentacao/galerias/17155-beneficios-dos-cogumelos-para-a-sua-saude>>. Acesso em 20 de janeiro de 2016.

YU, Pai Ching; CALDERARO, Daniela; IKEOKA, Dimas Tadahiro; DEMARCHI, Léa Maria; CARAMELLI, Bruno. Toxicidade miocárdica por doxorubicina. *Rev. Assoc. Med. Bras.* vol. 51 n. 3. São Paulo May/June, 2005.

ZANELLA, Julio. O benefício dos cogumelos. *Portal UNESP*, n. 193, Outubro de 2004.