

Quadro hematológico e peso do baço de camundongos com tumor de Ehrlich na forma sólida tratados com *Agaricus blazei*

Verçosa Júnior D^{1*}; Melo M.M.¹; Dantas-Barros A.M.²; Gomes A.M.¹; Silva Junior P.G.¹; Lago E.P.¹

¹Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária - UFMG

²Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia - UFMG

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a utilização do *Agaricus blazei* nas formas de filtrado e suspensão total aquosa (10mg/animal) na terapêutica de camundongos portadores de tumor de Ehrlich sólido, testando sua atividade anti-neoplásica. Os animais tratados diariamente com *A. blazei* apresentaram valores maiores dos parâmetros hematológicos (eritrograma e leucograma), e peso relativo final do baço quando comparados com o grupo controle (água destilada), porém sem diferença significativa ($P>0,05$).

Abstract

The aim of this study was to evaluate the anti-neoplastic properties of the aqueous suspension and filtrate (10mg/animal), *Agaricus blazei* on the solid Ehrlich tumor in mice. Groups treated with *A. blazei* had higher values of eritrogram and leukogram, and higher relative final spleen weight when compared to control (distillated water), but not statistically different ($p>0,05$).

O *Agaricus blazei* Murril é um cogumelo ordem *Agaricales*, descoberto no Brasil em 1965 nas matas da região de Piedade (SP). Além de grande valor nutricional por possuir aminoácidos essenciais, vitaminas e altos teores de fibras, possuem outras substâncias de potencial valor medicamentoso, como β -glucan, glucina, ergosterol, adrenocromo, *Active Hemi Cellulose Compound* (AHCC), *Antitumor Organic Substance Mie* (ATOM), provitamina C e alcalóides^{1,2}.

Já foram constatados aumentos nos níveis de interleucinas (IL-1 α , IL-1), além das ações anti-tumorais após utilização das frações 1-6- β glucan e 1-3- β glucan extraídas deste cogumelo, assim como aumento nas titulações de IgM, IgG e células NK após a administração via oral em cobaias^{3,4,5,6}.

O Tumor de Ehrlich na forma sólida (TES), é um tumor transplantável, originário de células epiteliais de carcinoma mamário, utilizado como modelo experimental em análises de desenvolvimento e tratamentos de carcinoma.

Neste estudo objetivou-se a investigação da eficácia do *A. blazei* (*in natura*) sobre parâmetros hematológicos e peso do baço de camundongos inoculados com TES.

Apesar de não ter sido observada diferença

estatisticamente significativa em relação ao eritrograma dos grupos tratados e o controle (Tab. 1), ocorreu discreta anemia normocítica normocrômica nos três grupos avaliados, anemia freqüentemente observada em animais com implantes tumorais de crescimento explosivo como este, e em aplasias de medula óssea. Da mesma forma, não houve diferença estatística em relação ao número de leucócitos totais, porém percebe-se uma diferença de 53,3% no número destas células entre o GI (2.960 ± 1.220) e o GII (4.540 ± 1.790). Somente no grupo controle (GI), foi observado leucopenia caracterizada por decréscimo dos valores normais de linfócitos (totais e jovens). Em todos os grupos observou-se neutrófilos bastonetes dentro dos limites de referência para camundongos com 87 dias, porém no GI, isto poderia indicar um desvio para a esquerda do tipo degenerativo devido à leucopenia, reforçando o esgotamento da medula óssea relatado anteriormente. Nos grupos tratados (GII e GIII) não foi observada leucopenia, podendo indicar um efeito protetor do *A. blazei* sobre a série leucocitária. Os monócitos apresentaram discreto aumento e não foram detectados eosinófilos e basófilos durante a contagem

diferencial de leucócitos nos grupos estudados.

Os grupos estudados apresentaram as seguintes médias de peso relativo do baço e desvio padrão: GI = $0,0031 \pm 0,005g$; GII = $0,0042 \pm 0,008g$ e GIII = $0,00510 \pm 0,017g$. Apesar de não ter sido observada diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos, percebe-se uma tendência de aumento do peso deste órgão nos grupos tratados em relação ao controle (Fig. 1). Este aumento poderia estar correlacionado à existência no baço de camundongos, de leucócitos em diversos estados de maturação, inclusive as chamadas *ring-cells*. Outro fator que poderia estar correlacionado com a função hematopoiética é o maior número de megacariócitos, que sofrem maturação no baço desta espécie⁷.

Parece haver um efeito mieloprotetor do *A. blazei*, especialmente em relação à série leucocitária ou um efeito imunoestimulante, observado tanto na forma de filtrado quanto na de suspensão total, por via oral, na dosagem de 10mg por animal. Da mesma forma, o cogumelo foi capaz de induzir a um aumento do peso relativo médio do baço, quando comparado ao grupo controle porém, sem apresentar valores estatisticamente significativos ($P > 0,05$).

Tabela 1. Valores hematológicos (média e desvio padrão) de camundongos com TES, submetidos ao tratamento diário com água destilada (GI), filtrado (GII) e suspensão total (GIII) de *A. blazei* (10mg/animal) por via oral, durante dez dias.

Grupos	GI - (n=6)	GII - (n=6)	GIII - (n=6)
Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	7.23 ± 1.74	8.09 ± 1.33	8.14 ± 1.79
Hemoglobina (g/dl)	10.7 ± 2.55	11.52 ± 1.50	11.6 ± 2.31
Hematócrito (%)	30.86 ± 7.78	34 ± 5.60	33.83 ± 8.09
VCM (fl)	42.57 ± 1.13	42 ± 0.00	41.33 ± 1.03
HCM (ppg)	15 ± 1	14.3 ± 0.79	14.33 ± 0.82
CHCM (%)	34.57 ± 2.57	34.4 ± 1.86	34.5 ± 2.26
Leucócitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	2.96 ± 1.22	4.54 ± 1.79	3.73 ± 1.55
Bastonetes ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	0.07 ± 0.07	0.08 ± 0.08	0.07 ± 0.07
Segmentados ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	0.25 ± 0.21	0.41 ± 0.30	0.39 ± 0.20
Ring cells ($\times 10^3/\text{mm}^3$) **	0.11 ± 0.10	0.37 ± 0.41	0.22 ± 0.19
Monócitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	0.25 ± 0.12	0.29 ± 0.12	0.18 ± 0.05
Linfócitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	1.99 ± 0.89	3.41 ± 1.46	2.86 ± 1.45

* Sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados ($P > 0,05$).

** Estagio de diferenciação do neutrófilo: entre mielócito e o metamielócito (7).

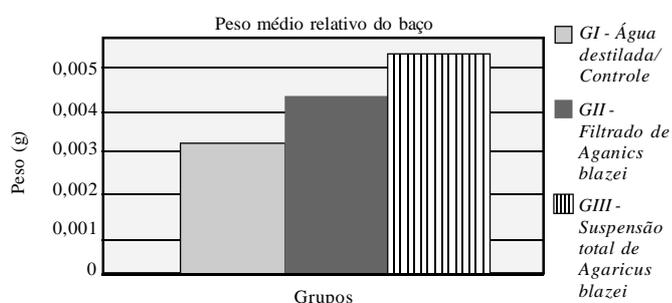


Figura 1. Valores médios (g) de peso relativo do baço de camundongos com TES, submetidos ao tratamento diário com água destilada (GI), filtrado (GII) e suspensão total (GIII) de *A. blazei* (10mg/animal), via oral, durante dez dias.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 21 camundongos Swiss, fêmeas, adultas, não isogênicas, pesando entre 25 e 30g, provenientes do biotério do Instituto de Ciências Biológicas - UFMG, alimentados com ração balanceada *ad libitum* e submetidos ao controle artificial de ciclos de luminosidade (12 horas de luz/12 horas de escuro).

O TES foi inoculado entre os coxins plantares, do membro posterior esquerdo dos camundongos (dia 1) após a coleta e lavagem e contagem das células de tumor Ehrlich ascítico (TEA) de um animal doador, em um volume de 0,05ml de solução contendo $2,5 \times 10^6$ células tumorais. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos ($n=6$).

O cogumelo *in natura*, seco a 37°C foi triturado à

granulometria de 40 mesh e submetido diariamente à extração com água destilada (25mg/ml), durante 15 minutos a uma temperatura de 60°C seguido de 105 minutos a 25°C, para obtenção da suspensão total. Após a filtração de parte desta suspensão, era obtido o filtrado. As soluções foram diariamente administradas por gavagem (0,4ml por animal), durante dez dias, iniciando-se no dia da inoculação tumoral. Este volume corresponde à administração de 10mg de *A. blazei* por camundongo por dia, sob a forma de filtrado (GII), ou suspensão total (GIII) aos animais dos grupos tratados. O grupo controle (GI), recebeu 0,4ml de água destilada.

No décimo dia após inoculação tumoral, todos os camundongos foram submetidos à anestesia geral, pesados, coletado 0,9ml de sangue com EDTA 10%, sacrificados e necropsiados. O eritrograma e a contagem total de leucócitos foram realizados em câmara de Neubauer e a contagem diferencial dos leucócitos foi realizada em esfregaços sangüíneos corados em May-Gruenwald-Giemsa⁸. Para obtenção de valores hematológicos de referência, foram realizadas coletas sangüíneas e avaliações de série vermelha e branca, pelos mesmos métodos, em 30 camundongos, fêmeas, clinicamente saudáveis, livres de implantes tumorais, da mesma idade (87 dias) e mantidos sob as mesmas condições no biotério.

Durante a necropsia, os baços foram extraídos e pesados em balança analítica. O peso foi dividido pelo peso total do animal, obtendo-se assim, o peso relativo do órgão. Todos os resultados sofreram análise estatística (ANOVA) com nível de significância de 95%.

Referências

- ¹ Ito H, Shimura K. 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* 1997; 17: 277-284.
- ² Ohno N, Furukawa M, Minura NN, Adachi Y, Mitoi M, Yadomae T. Antitumor beta glucan from the cultured fruit body of *Agaricus blazei*. *Biological Pharmaceutical Bulletin* 2001; 24: 820-828.
- ³ Takeshi T, Kimura Y, Okada H. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murrill and its mechanism of action. *Journal of Nutrition* 2001; 131: 1409-1413.
- ⁴ Veronesi R. Os cogumelos medicinais e seus comprovados efeitos em inúmeras doenças humanas. *Revista Brasileira de Medicina* 2001; 58: 836-837.
- ⁵ Mizuno T. Medicinal properties and clinical effects of culinary-medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murrill (*Agaricomycetideae*) (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 2002; 4: 299-312.
- ⁶ Oshimana K, Fujimiya Y, Ebina T, Suukii, Noji M. Orally administered beta-1,6-D-polyglucose extracted from *Agaricus blazei* results in tumor regression in tumor-bearing mice. *Planta Medica* 2002; 68: 610-614.
- ⁷ Jain NCJ, Normal values in blood of laboratory, fur-bearing,

and miscellaneous zoo, domestic and wild animals. In: _ Schalm's Veterinary Hematology. 4^a ed. Philadelphia: Lea e Febiger, p.274-349, 1986.

- ⁸ Ferreira Neto JM, Viana E, Magalhães LM. Patologia clínica veterinária. 2^a ed. Belo Horizonte: Rabelo, 1982. 279p.

* Autor para correspondência

Durval Verçosa Junior
Laboratório de Toxicologia Veterinária
Escola de Veterinária, UFMG
Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG
e-mail: durvalver@bol.com.br