

Avaliação do uso de fator de transferência na resposta imunológica de pacientes cirúrgicos imunodeprimidos

Use of transfer factor in immunosuppressed surgical patients

CELIA REGINA OLIVEIRA GARRITANO, TCBCRJ¹; FRANCESCO DI NUBILA¹; RENATA M. COUTO¹; ROSSANO KEPLER ALVIM FIORELLI, TCBC-RJ¹; LUCIANA BERTI AUN¹.

R E S U M O

Objetivo: avaliar a ação do Fator de Transferência na resposta imunológica de pacientes portadores de neoplasia maligna submetidos à cirurgia, quimioterapia e radioterapia. **Método:** análise das variações dos valores dos leucócitos, linfócitos totais, linfócitos T e CD4 em 60 pacientes submetidos à imunoestimulação com Fator de Transferência administrado em dose única de 0,5mg por via sublingual, diariamente e iniciada simultaneamente à quimioterapia e/ou radioterapia. **Resultados:** houve um aumento no número de todas as linhagens celulares estudadas que foi mais acentuada após 12 meses de uso da medicação. A análise estatística realizada com o software *Graph Pad Instat*, testadas pelo método *Kolmogorov and Smirnov*, mostrou que os resultados foram significativos. **Conclusão:** o Fator de Transferência restabeleceu a resposta imune e não apresentou efeitos colaterais.

Descritores: Fator de Transferência. Imunidade Celular. Invasividade Neoplásica.

INTRODUÇÃO

Descoberto por Henry Sherwood Lawrence, em 1955, o Fator de Transferência (FT) é um extrato obtido de células esplênicas de vitelo, constando de um polipeptídeo conjugado com peso molecular em torno de 6.000 Daltons e estrutura semelhante ao RNA¹⁻³. O FT tem uma importante função estimuladora do sistema imune promovendo a maturação e diferenciação dos timócitos em linfócitos T; a restauração das funções dos linfócitos periféricos com deficiência funcional; a recuperação da imunidade humoral através da diferenciação dos linfócitos B, formando plasmócitos e sintetizando anticorpos humorais específicos; o aumento da capacidade de rejeição de enxertos alogênicos; a ativação "in vitro" dos linfócitos T através da ação citotóxica, da produção de linfocinas e do aumento da atividade do sistema mononuclear fagocítico (SRE). Quando administrado oralmente estabelece um contato direto com as placas de Peyer's e com os linfonodos, onde exerce uma ação eletiva sobre os linfócitos e as células apresentadoras de antígenos. As enzimas digestivas e o ácido clorídrico não

influenciam a sua estabilidade²⁻⁴.

A primeira evidência de que o câncer surge devido às alterações genéticas somáticas veio de estudos de linfoma de Burkitt⁴. A partir de então várias doenças malignas foram associadas com os oncogenes, surgindo a possibilidade da utilização de imunomoduladores como tratamento complementar à cirurgia, quimioterapia e radioterapia⁵⁻¹⁰. Os melhores resultados do tratamento da doença neoplásica são alcançados quando se consegue a redução da carga tumoral através da cirurgia, complementada pela quimioterapia e radioterapia. No entanto estes procedimentos afetam o sistema imune, e mesmo sendo de forma temporária, acaba influenciando os respectivos esquemas terapêuticos, que algumas vezes tem que ser interrompidos devido ao baixo número de leucócitos, linfócitos e aos efeitos colaterais importantes resultantes do comprometimento da resposta imune. Os agentes imunoestimuladores têm contribuído para evitar ou minimizar estes danos colaterais, entre eles o FT, que foi usado pela primeira vez no tratamento de câncer por Fudenberg *et al.*¹¹, em 1976, e que também passou a ser utilizado no tratamento de doenças não neoplásicas^{2,3,11}.

1 - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Departamento de Cirurgia Geral e Especializada / Mestrado em Medicina, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

MÉTODOS

Trabalho realizado no Hospital Universitário Gaffrée e Guinle da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO, em 60 pacientes, de ambos os sexos, com idade superior a 30 anos, portadores de neoplasia maligna comprovada por exame histopatológico de peça cirúrgica, submetidos à quimioterapia (QT) e/ou radioterapia (RT) pós-cirurgia, acompanhados por 12 meses ambulatorialmente. A imunestimulação foi feita com Fator de Transferência fornecido pelo Laboratório de Extratos Alergênicos Ltda. registrado no Ministério da Saúde com o número 1729.0011.001-4. A substância foi administrada em dose única de 0,5mg por via sublingual, diariamente, e iniciada simultaneamente à quimioterapia e/ou radioterapia. Todos os pacientes foram submetidos à avaliação imunológica antes de iniciar o tratamento, através de exames laboratoriais (contagem de leucócitos, linfócitos totais, linfócitos T e da subpopulação de linfócitos CD4), que foram repetidos após seis e 12 meses do início da terapia. Foi feita a comparação dos resultados dos exames de antes do início do tratamento com os

realizados seis e 12 meses de uso da medicação.

Os resultados são apresentados como média e \pm desvio padrão. A análise dos dados foi realizada através de tabelas e gráficos com a utilização do *software Microsoft Office Excell 7®*. Para a análise estatística utilizamos o *software Graph Pad InStat* versão 3.0, *San Diego Califórnia®* e, para efeito de interpretação, o limite de erro tipo I foi até 5% ($p \leq 0,05$). As variáveis foram testadas pelo método *Kolmogorov and Smirnov (KS)*, a inferência pelo teste de *Wilcoxon* para amostras não paramétricas e teste "t" de *Student* para amostras paramétricas.

O estudo foi apreciado e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa de acordo com a Resolução 196/96.

RESULTADOS

Na análise estatística todas as amostras avaliadas apresentaram uma distribuição normal pelo método *Kolmogorov and Smirnov (KS)*. As características dos pacientes analisados estão contidas na tabela 1.

Tabela 1. Distribuição das variáveis do estudo pelo número de mulheres incluídas (n=2273).

Sexo		Faixa etária – casos (%)		Local do tumor – casos (%)	
Masculino 14 (23,3%)	Feminino 60 (76,7%)	30-39 anos	4 (9,7%)	Mama	20 (33,3%)
		40-49 anos	15 (25%)	Intestino	18 (30%)
		50-59 anos	8 (13,3%)	Estômago	11 (18,3%)
		60-69 anos	20 (33,3%)	Pâncreas	5 (8,3%)
		+ 70 anos	13 (21,7%)	Útero	3 (5%)
				Pulmão	1 (1,7%)
				Lipossarcoma	1 (1,7%)
				Rim	1 (1,7%)

Em relação à contagem de leucócitos totais 39 (65%) pacientes apresentaram uma elevação nos valores em seis meses e 50 (83,3%) em 12 meses na comparação com o resultado de antes do início da terapia. Este aumento variou de 1,9% a 103% em seis meses e de 2,1% a 170% em 12 meses. Observou-se que dos 21 casos (35%) que tiveram redução dos valores dos leucócitos em seis meses, 18 (85,7%) conseguiram se recuperar em 12 meses, sendo que 12 (57,1%) alcançaram taxas superiores às do

início do tratamento.

A contagem de linfócitos totais teve uma elevação em seis meses em 40 (66,7%) pacientes e em 48 (80%) casos em 12 meses. Este aumento variou de 1,5% a 85% em seis meses e de 0,2% a 137,7% em 12 meses. Dos 20 casos (33,3%) que tiveram redução dos valores dos linfócitos em seis meses, 16 (80%) conseguiram se recuperar em 12 meses, sendo que 13 (65%) apresentaram valores maiores do que aos encontrados no início do tratamento.

Analisando as médias dos valores de leucócitos da amostra, observou-se um aumento de 5,6% quando se compara as taxas de antes do início do tratamento com os de após seis meses; de 20,1% entre as do pré-tratamento e

12 meses, e de 12,4% entre seis e 12 meses de tratamento. Em relação às médias de linfócitos totais este aumento foi de 5%, 24,8% e 14,9%, respectivamente. A análise estatística destas variações se mostrou muito significativa (Tabela 2).

Tabela 2. Variações dos valores dos leucócitos e linfócitos.

Linfócitos T	Valor	Linfócitos CD4	Valor
Média		Média	
Antes	1174 (\pm 486)	Antes	732 (\pm 279)
6 meses	1278 (\pm 463)	6 meses	772 (\pm 311)
12 meses	1477 (\pm 541)	12 meses	919 (\pm 316)
Teste t	$p < 0,0001$ (MS)	Teste t	$p < 0,0001$ (MS)

Valores expressos em média, \pm desvio padrão, valor de p , (MS) muito significativo.

Tabela 3. Variações dos valores dos linfócitos T e CD4.

Linfócitos T	Valor	Linfócitos CD4	Valor
Média		Média	
Antes	5073 (\pm 1281)	Antes	1642 (\pm 537)
6 meses	5356 (\pm 1522)	6 meses	1742 (\pm 580)
12 meses	6019 (\pm 1341)	12 meses	1980 (\pm 594)
Teste t	$p < 0,0001$ (MS)	Teste t	$p < 0,0001$ (MS)

Valores expressos em média, \pm desvio padrão, valor de p , (MS) muito significativo.

A análise dos linfócitos T evidenciou que 38 (63,3%) pacientes apresentaram uma elevação nos valores em seis meses e 46 (76,7%) em 12 meses na comparação com o resultado de antes do início da terapia. Este aumento variou de 0,4% a 320% em seis meses e de 0,5% a 160% em 12 meses. Observou-se que dos 22 casos (36,7%) que tiveram redução na contagem de linfócitos T em seis meses, 17 (77,3%) conseguiram se recuperar em 12 meses, sendo que 11 (64,7%) alcançaram taxas superiores às do início do tratamento.

Na avaliação da subpopulação de linfócitos CD4 também ocorreu uma elevação, sendo em 35 (58,3%) casos quando se compara antes do tratamento e seis meses e em 51 (85%) casos comparando-se os valores de antes do tratamento e após 12 meses. Este aumento variou de 0,6% a 162,1% em seis meses e de 0,5% a 337,1% em 12 meses. Observou-se que dos 25 casos (41,7%) que tiveram redução dos valores da

subpopulação CD4 em seis meses, 19 (76%) conseguiram se recuperar em 12 meses, sendo que 16 (84,2%) conseguiram obter taxas superiores às do início do tratamento.

Ao avaliarmos as médias de linfócitos T da amostra, observa-se uma elevação de 8,8% quando se compara os valores de antes do início do tratamento com os de após seis meses; de 33,4% entre pré-tratamento e 12 meses, e de 15,6% entre seis e 12 meses de tratamento. O mesmo aconteceu em relação à subpopulação CD4 com um aumento de 5,5%, 20,6% e de 19%, respectivamente. A análise estatística destas variações se mostrou muito significativa (Tabela 3).

Ao avaliarmos as médias dos resultados dos exames no período estudado, observou-se que em todas elas houve uma elevação dos valores, que foi mais expressiva com 12 meses de tratamento, como mostra a figura 1.

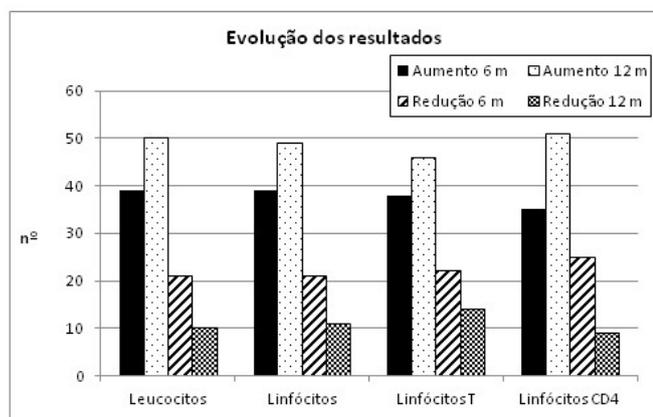


Figura 1. Comparação dos resultados dos exames realizados.

DISCUSSÃO

Uma resposta imunológica deficiente favorece o aparecimento de várias doenças de origem viral, bacteriana e neoplásica. Em relação ao câncer isto se torna mais grave porque o próprio tumor, assim como o uso de QT, RT e corticoides também afetam o sistema imune acentuando ainda mais a imunossupressão. Vários imunomoduladores tem sido usados para reverter esta situação com o objetivo não só de melhorar a resposta imunológica, minimizando os efeitos colaterais da QT e RT, mas de permitir que os esquemas utilizados não sejam interrompidos, o que compromete os resultados dos

tratamentos¹⁰⁻²⁰.

Os linfócitos e suas subclasses T são fundamentais para a resposta imune, especialmente quando se trata de tumores sólidos, e desta forma os trabalhos que visam ao combate a este tipo de tumor tem o objetivo de torná-los ativos e competentes^{16,17,19,20}. Neste trabalho observamos que os linfócitos totais assim como as suas subclasses apresentaram uma elevação dos valores, que foi mais acentuada com o uso do FT por 12 meses, e mesmo nos casos em que ocorreu redução das taxas nos primeiros seis meses de tratamento, estas foram recuperadas após 12 meses. A melhor resposta foi evidenciada pela subpopulação de linfócitos CD4, com um aumento de 80% ao final do estudo, sendo que entre os que tiveram uma diminuição inicial, 76% deles apresentaram uma elevação com 12 meses de tratamento.

Procuramos também analisar o efeito do FT sobre os leucócitos totais, e também observamos que houve um aumento dos valores em 83,3% dos casos com 12 meses de terapia e, igualmente aos linfócitos, naqueles em que se observou uma redução inicial, 85,7% apresentaram elevação das taxas após 12 meses de uso do FT.

Concluimos, assim, que o FT promoveu a ativação de leucócitos, linfócitos totais e suas subclasses, acarretando um estímulo da resposta imune, principalmente quando utilizado por um período de 12 meses.

ABSTRACT

Objective : to evaluate the action of Transfer Factor on the immune response of patients with malignant neoplasm submitted to surgery, chemotherapy and radiotherapy. **Method:** we analyzed the variations of leukocytes, total lymphocytes, T-lymphocytes and CD4 counts in 60 patients submitted to immunostimulation with a single, daily dose of 0.5mg sublingual Transfer Factor, started simultaneously with chemotherapy and/or radiotherapy. **Results:** there were statistically significant increases in the counts of all cell lines studied, more pronounced after 12 months of use of the medication. **Conclusion:** the Transfer Factor restored immune response and showed no side effects.

Keywords: Transfer Factor. Immunity, Cellular. Neoplasm Invasiveness.

REFERÊNCIAS

1. Al-Askari S. Henry Sherwood Lawrence. In: Biographical Memoirs. Washington, D.C.: National Academy of Sciences; 2009. p. 237-55.
2. Gibson J, Basten A, Van Der Brink C. Clinical use of transfer factor 25 years. *Immunol Allergy Clin N A*. 1983;3(2):331-57.
3. Kirkpatrick CH. Therapeutic potential of transfer factor. *N Engl J Med*. 1980;303(7):390-1.
4. Cosme K, González M, Gorovaya L, Soria Y, Barcelona S, Quintana M, et al. Determinación de la actividad biológica in vivo del Factor de Transferencia. *Técnica alternativa. Biotecnol Apl*. 2001;18(Espec.):E16.
5. Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med*. 2008;358(5):502-11.

6. Cook JA, Taylor D, Cohen C, Hoffmann EO, Rodrigue J, Malshet V, et al. Evaluation of effector cells mediating the antitumor action of glucan. *J Reticuloendothel Soc.* 1977;22(1):21-34.
 7. Diluzio NR. Macrophage glucan-activated macrophages and neoplasia. In: Altura BM, Saba TM, editors. *Pathophysiology of the reticuloendothelial system.* New York: Raven Press; 1981. p. 209-24.
 8. Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science.* 2008;319(5866):1096-100.
 9. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008;454(7203):436-44.
 10. Garritano CRO, Gomes JCG, Pimenteira CAP. β 1-3 Glucan no tratamento do câncer de intestino. *J Bras Med.* 2010;98(4):22-4.
 11. Levine PH, Pizza G, Ajmera K, De Vinci C, Viza D. Transfer factor in virus-associated malignancies: an underestimated weapon in prevention and treatment of cancer. *Adv Tumor Virol.* 2002;2:7-20.
 12. Souza CA, Vigorito AC, Aranha FJP, Oliveira GB, Eid KAB, Ruiz MA. Terapêutica citoprotetora em pacientes tratados com quimio e/ou radioterapia anti neoplásica. *Rev Bras Hematol.Hemoter.* 2000;22(2):123-8.
 13. Patchen ML, MacVittie TJ, Souza LM. Postirradiation treatment with granulocyte colony-stimulating factor and preirradiation WR-2721 administration synergize to enhance hemopoietic reconstitution and increase survival. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1992;22(4):773-9.
 14. De Souza CA, Santini G, Marino G, Nati S, Congiu AM, Vigorito AC, et al. Amifostine (WR-2712), a cytoprotective agent during high-dose cyclophosphamide treatment of non-Hodgkin's lymphomas: a phase II study. *Braz J Med Biol Res.* 2000;33(7):791-8.
 15. Gattinoni L, Powell DJ Jr, Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive immunotherapy for cancer: building on success. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(5):383-93.
 16. Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, Morgan RA, Dudley ME. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(4):299-308.
 17. Guinn BA, Kasahara N, Farzaneh F, Habib NA, Norris JS, Deisseroth, AB. Recent advances and current challenges in tumor immunology and immunotherapy. *Mol Ther.* 2007;15(6):1065-71.
 18. Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, Hughes MS, Yang JC, Sherry RM, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science.* 2006;314(5796):126-9.
 19. Ribeiro-Santos G. Quimioterapia do câncer: imunossupressão x imunostimulação. *Rev Inter Toxicol Risco Ambiental Soc.* 2009;2(3):51-4.
 20. Yoon TJ, Kim TJ, Lee H, Shin KS, Yun YP, Moon WK, et al. Anti-tumor metastatic activity of beta-glucan purified from mutated *Saccharomyces cerevisiae*. *Int Immunopharmacol.* 2008;8(1):36-42.
- Recebido em: 16/03/2017
Aceito para publicação em: 01/06/2017
Conflito de interesse: nenhum.
Fonte de financiamento: nenhuma.
- Endereço para correspondência:**
Rossano Kepler Alvim Fiorelli
E-mail: fiorellirossano@hotmail.com / cgarritano@gmail.com