

Sílvia Santos Felgueiras

Utilização de cogumelos imunoestimulantes em oncologia

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Lígia Maria Ribeiro Silva Couto e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Sílvia Santos Felgueiras, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009982, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Julho de 2014.

A Tutora:

(Professora Doutora Lúcia Maria Ribeiro Silva Couto)

A aluna:

(Sílvia Santos Felgueiras)

Índice

Lista de acrónimos.....	2
I Resumo.....	3
Abstract.....	3
2 Introdução	4
3 Medicina tradicional em oncologia	5
4 Utilização de cogumelos imunoestimulantes	5
4.1 Cogumelos como moduladores do processo carcinogénico.....	6
5 Composição química dos cogumelos e propriedades anticancerígenas dos polissacarídeos.	6
6 Mecanismos de ação.....	8
6.1 Ação indireta.....	8
6.1.1 Recetores dos glucanos	8
6.2 Ação direta.....	9
7 Exemplos de cogumelos imunoestimulantes.....	10
7.1 <i>Lentinus edodes</i> (Xitake).....	10
7.2 <i>Grifola frondosa</i> (Maitake).....	11
7.3 <i>Coriolus versicolor</i>	15
7.4 <i>Ganoderma lucidum</i> (Reishi).....	20
7.5 <i>Inonotus obliquus</i> (Chaga)	21
7.6 <i>Agaricus blazei</i> Murill.....	22
8 Conclusão	23
9 Bibliografia.....	25
10 Anexos	33

Lista de acrónimos

BRM – Modificador da Resposta Biológica

CARD9 – Complexo de Domínio de Recrutamento da Caspase 9

Cit c – Citocromo c

CR3 – Recetor do Complemento Tipo 3

CTL – Linfócito T Citotóxico

CV – *Coriolus versicolor*

DC – Célula Dendrítica

GALT – Tecido Linfóide Associado ao Epitélio do Trato Digestivo

G-CSF – Fator de Estimulação das Colónias de Granulócitos

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HPV – Papiloma Vírus Humano

INF- γ – Interferão Gama

IL – Interleucina

IPO – Instituto Português de Oncologia

kDa – Kilodalton

LacCer – Lactosilceramida

L.E.M – Micélio de *Lentinus edodes*

LSIL – Lesão Escamosa Intraepitelial de Baixo Grau

MAPK – Proteína Cinase Ativada por Mitogénio

MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade

MLN – Nódulo Linfático Mesentérico

MyD88 – Gene 88 de Resposta Primária de Diferenciação Mieloide

NF – Fator Nuclear

NK – *Natural Killer*

PP – Placas de Peyer

PSK – Polissacarídeo k

PSP – Polissacarídeo P

ROS – Espécies Reativas de Oxigénio

Syk – Tirosina Cinase do Baço

TLR – Recetor do Tipo Toll

TNF – Fator de Necrose Tumoral

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

I Resumo

Numa época em que as doenças cancerígenas afetam cada vez mais a população, torna-se primordial a investigação constante de produtos mais eficazes e menos tóxicos. Infelizmente, muitas das terapêuticas convencionais de tratamento do cancro afetam não só as células cancerígenas, como também as células normais do organismo.

Os cogumelos medicinais estão a tornar-se cada vez mais alvo de interesse pela comunidade científica, pela sua elevada eficácia e reduzida toxicidade. *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Inonotus obliquus* e *Agaricus blazei* Murill têm vindo a ser profundamente analisados, pelas suas propriedades imunomoduladoras e imunoestimulantes, como forma de prevenção e terapia adjunta em oncologia. Os resultados são promissores e as descobertas cada vez mais importantes, uma vez que estes produtos, bastante populares entre a medicina alternativa oriental, estão a fomentar grande interesse no ocidente. Atualmente, já há ensaios clínicos a comprovar a sua segurança e eficácia, como terapêutica adjunta em oncologia, ainda que sejam necessários mais, em larga escala e projetados rigorosamente.

Abstract

At a time in which cancerous diseases increasingly affect the population, it becomes paramount to constant research into more effective and less toxic products. Unfortunately, many conventional treatments of cancer affect not only cancer cells, but also normal cells in the body.

Medicinal mushrooms are becoming increasingly the target of interest by the scientific community due to its high efficacy and reduced toxicity. *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Inonotus obliquus* and *Agaricus blazei* Murill have been thoroughly analyzed for its immunomodulatory and immunostimulant properties as means of prevention and adjunctive therapy in oncology. The results are promising, and discoveries increasing, so these products quite popular among the alternative oriental medicine, are gaining interest in the West. Currently, there are already clinical trials to prove its safety and efficacy as adjunctive therapy in oncology, but more are needed, in large-scale and rigorously designed.

2 Introdução

Os cogumelos são valorizados pelo ser humano há milénios como fonte médica e de alimento. Compreendem um vasto e ainda pouco explorado meio de novos e poderosos produtos farmacêuticos, uma vez que representam uma quantidade ilimitada de polissacarídeos, com atividades antitumorais e imunomoduladoras. Estima-se que o número de cogumelos no nosso planeta seja cerca de 140000, mas apenas 10% são conhecidos (1). No extremo oriente são utilizados há mais de 2000 anos para fins medicinais, e no ocidente, eram, até há pouco, consumidos apenas pelo seu aroma e sabor. Nas últimas décadas, tem havido uma maior pesquisa sobre estes produtos, relativamente ao seu impacto na saúde humana, dado que, as propriedades anticancerígenas dos cogumelos da classe basidiomicetes são conhecidas há centenas de anos (2).

No século passado foi iniciado o isolamento de muitos compostos ativos dos cogumelos, o que permitiu que fossem testados tanto em modelos *in vitro* como *in vivo*, antes da aplicação apropriada como anticancerígeno em humanos (3).

Alguns dos compostos naturais dos cogumelos demonstram atividade específica contra vias de sinalização ativadas em células cancerígenas e são capazes de modular alvos moleculares específicos na função celular, incluindo proliferação, sobrevivência celular e angiogénese (4).

Segundo alguns estudos, estas propriedades relativas aos compostos biologicamente ativos, são maioritariamente atribuídas aos polissacarídeos (2). Alguns deles têm sido alvo de um acrescido interesse por parte da comunidade científica, devido à sua capacidade de exercer uma forte atividade ao nível do sistema imunitário, em situações de inflamação e cancro (5).

Considerando estas observações, verifica-se que as exigências dos consumidores em termos de produção de alimentos mudaram consideravelmente, acreditado assim, cada vez mais, que os alimentos contribuem diretamente para a saúde e bem-estar, não sendo exclusivamente destinados a satisfazer a fome e fornecer os nutrientes necessários, mas também a prevenir doenças e melhorar o bem-estar físico e mental (6).

3 Medicina tradicional em oncologia

Os cogumelos têm sido valorizados como comestíveis e medicinais para a humanidade, há milénios. Os cogumelos medicinais têm um longo historial de uso em terapias tradicionais antigas. As pesquisas contemporâneas têm vindo a validar e documentar a maior parte desse conhecimento antigo. O campo interdisciplinar da ciência que estuda os cogumelos medicinais, tem vindo a desenvolver e demonstrar propriedades únicas de compostos extraídos de uma variedade de espécies de cogumelos (7).

O cancro constitui o maior problema de saúde pública da atualidade (7). É uma das principais causas de morte em todo o mundo. Existem muitas terapias anticancerígenas disponíveis, incluindo a quimioterapia e radioterapia, que apesar de combaterem o cancro, causam inúmeros efeitos adversos, como danos no sistema imunitário. Como tal, é necessário investigar novos fármacos anti-tumorais que melhorem a imunidade, sem prejudicar o hospedeiro (8; 9). Por outro lado, os produtos naturais anticancerígenos têm vindo a demonstrar ser eficazes e pouco tóxicos (10). Acredita-se que uma série de suplementos à base de produtos naturais, possuam uma forte atividade antitumoral e efeitos antimetastáticos. Por outro lado, possuem propriedades imunomoduladoras e de baixa toxicidade para as células normais (9).

A justificação científica baseada na elucidação dos mecanismos responsáveis pelos efeitos biológicos de produtos naturais, como os cogumelos, pode ser útil na sua validação em terapias coadjuvantes no cancro (11).

4 Utilização de cogumelos imunoestimulantes

Não é de surpreender que os cogumelos sejam fonte de diversos compostos biologicamente ativos. Conseguem crescer em locais escuros e em climas húmidos, em ambientes altamente competitivos, e proteger-se do ataque de micróbios, através do desenvolvimento de substâncias protetoras naturais (6).

Os cogumelos têm vindo a ser reconhecidos como alimentos funcionais, e como fonte de desenvolvimento de possíveis medicamentos. O carpóforo, o micélio e os esporos, são detentores de diversos metabolitos bioativos com propriedades imunoestimulantes, anti-fibróticas, anti-inflamatórias, anti-diabéticas e anti-virais (12).

A estimulação do sistema imunitário do hospedeiro por polímeros bioativos de cogumelos medicinais tem efeitos significativos sobre a maturação, diferenciação e proliferação de vários tipos de células imunitárias. Muitos desses polímeros têm

propriedades imunoterapêuticas por facilitarem a inibição do crescimento e destruição de células tumorais (7).

4.1 Cogumelos como moduladores do processo carcinogénico

A carcinogénese é geralmente um processo demorado, em que durante vários anos ocorrem alterações genéticas progressivas, levando à transformação maligna. A prevenção do cancro é a melhor intervenção neste processo, antes da doença invasiva se desenvolver. A compreensão da carcinogénese tem vindo a crescer largamente, e o conhecimento proporcionado serviu de base para a maioria das estratégias de intervenção preventiva, particularmente para uma delas, a quimioprevenção. Esta corresponde ao uso de medicamentos, produtos biológicos e nutrientes para prevenir o desenvolvimento do cancro (ou seja, para inibir, retardar ou reverter a carcinogénese).

A carcinogénese tem sido tradicionalmente entendida como contendo três fases: iniciação, promoção e progressão. Tem sido descrito que a modulação do sistema imunitário humano, atribuído aos cogumelos, particularmente aos seus polissacarídeos, é suscetível de afetar principalmente as fases de promoção e progressão.

Existem vantagens da utilização de cogumelos como fonte de compostos bioativos, em vez de plantas. Por exemplo, o corpo de frutificação pode ser produzido em muito menos tempo e o micélio pode também ser produzido rapidamente (6).

5 Composição química dos cogumelos e propriedades anticancerígenas dos polissacarídeos

Em geral, os cogumelos são constituídos por água (90%), proteínas (2-40%), hidratos de carbono (1-55%), fibras (3-32%) e cinzas (8-10%). O teor de cinzas é composto principalmente por sais e metais, como cálcio e magnésio. Entre os carboidratos, encontram-se alguns polissacarídeos biologicamente ativos, presentes no carpóforo e/ou micélio, como os β -glucanos, que têm captado a atenção de investigadores (13).

Os polissacarídeos pertencem a uma classe diversa de macromoléculas, sendo polímeros de resíduos de monossacarídeos, ligados entre si através de ligações glucosídicas (1). Os biologicamente ativos encontram-se entre os cogumelos da classe superior dos basidiomicetes, e muitos deles têm estruturas únicas, consoante a espécie. Além do mais, um cogumelo pode produzir polissacarídeos com diferentes propriedades (1). Na sua maioria, pertencem ao grupo dos β -glucanos. Estes compostos previnem a oncogénese, demonstram

atividade antitumoral direta contra diversos tipos de tumores, e previnem as metástases (1; 7). Podem ter efeitos significativos sobre a resposta imune inata e adaptativa e, portanto, têm potencial como imunostimulantes com amplas aplicações clínicas e medicinais (8). Recentemente, os polissacarídeos extraídos de plantas e fungos têm sido alvo de atenção de investigadores e consumidores, devido à sua toxicidade relativamente baixa e importantes atividades antitumorais. Assim, a descoberta e avaliação de polissacarídeos com propriedades antitumorais e imunostimulantes tem emergido como uma das áreas de pesquisa importante na química e biologia (14).

Os glucanos fazem parte da constituição da parede celular dos fungos e são extraídos de cogumelos medicinais. Os β -glucanos consistem em unidades de β -D-glucose e a sua estrutura depende da fonte e dos métodos de extração utilizados (13).

Vários estudos têm descrito a capacidade de (1 \rightarrow 3)- β -D-glucanos ativarem o sistema imunitário inato, possuindo também efeitos no sistema imunitário adquirido, induzindo respostas a nível humoral e por mediadores celulares (15). A atividade biológica dos polissacarídeos é influenciada pela sua estrutura química, peso molecular, quantidade e tipo de ramificações (2).

As suas propriedades anticancerígenas dependem de inúmeros fatores:

- Composição: as propriedades anticancerígenas têm sido descritas em relação a hétero β -glucanos, heteroglucanos, complexos β -glucano-proteína, α -mano- β -glucanos, complexos α -glucano-proteína e complexos de heteroglucano-proteína.
- Peso molecular: glucanos com elevado peso molecular parecem ser mais efetivos.
- Solubilidade aquosa: os que a possuem, são caracterizados por ter uma maior atividade.
- Ligação glucosídica: para haver atividade anticancerígena, é necessário que a cadeia principal tenha ligação β -(1 \rightarrow 3), e que possua ramificações β -(1 \rightarrow 6).
- Estrutura terciária: tem sido demonstrado que a destruição da estrutura terciária dos polissacarídeos reduz ou elimina a sua atividade.
- Presença de outros ligandos: galactose, manose, frutose, xilose e arabinose afetam favoravelmente a atividade anticancerígena. As ligações a proteínas também aumentam este potencial.
- Modificação química: é muitas vezes efetuada para melhorar a atividade anticancerígena de polissacáridos e as suas qualidades clínicas, aumentando a sua solubilidade na água e a capacidade de penetrar na parede intestinal após a administração oral (2).

6 Mecanismos de ação

A diversidade dos polissacarídeos e dos seus derivados reflete-se na diversidade dos seus mecanismos de ação. Em geral, há dois mecanismos básicos de ação dos polissacarídeos contra as células cancerígenas: ação indireta, através da imunoestimulação e direta, através da inibição do crescimento das células cancerígenas e indução da apoptose (2).

6.1 Ação indireta

Como os β -glucanos não são encontrados em animais, estimulam o sistema imunológico e induzem resposta imune inata, que protege o organismo contra ataques de microorganismos patogénicos. Os efeitos imunomoduladores são conhecidos por serem inconsistentes e variáveis, provavelmente devido a diferenças no grau de ramificação, comprimento do polímero, e estruturas terciárias entre os β -glucanos.

Certos glucanos, incluindo o lentinano, parecem ativar fagócitos de forma eficaz. Enquanto os neutrófilos são eficazes contra bactérias patogénicas, as células *natural killer* (NK) circulam no sangue para lisar células cancerígenas ou infetadas por vírus. Além disso, os β -glucanos estimulam os macrófagos a produzir citocinas, imunomoduladores locais, e estes, por sua vez, ativam a imunidade adaptativa contra antigénios, o que envolve tanto as células B, como T. As células B produzem anticorpos para mediar a imunidade humoral, enquanto as células T induzem a imunidade mediada por células. A resposta imune adaptativa também envolve as células dendríticas (DC), derivadas de monócitos. Estas apresentam antigénios às células T, para a ativação de respostas imunes. Há dados que apontam que os β -glucanos melhoram a função de apresentação do antigénio pelas DCs, induzindo as células T citotóxicas específicas do tumor (16).

6.1.1 Recetores dos glucanos

Os β -glucanos são reconhecidos através de recetores celulares, existentes em células do sistema imunológico como moléculas “non-self”, induzindo repostas a nível do sistema imune inato e adaptativo. Foram identificados vários recetores em seres humanos, que incluem a dectina-I, o recetor do tipo *Toll* (TLR), recetor do complemento tipo 3 (CR3), recetor “*scavenger*” e lactosilceramida (LacCer). A dectina-I, lectina da família de recetores do tipo C, é vulgarmente expressa em macrófagos, neutrófilos, DCs, e algumas células T, mas não em células NK. A ligação da dectina-I com β -glucanos ativa várias vias de sinalização, para promover a resposta imune inata, como a indução de citocinas

inflamatórias, ativação de fagocitose e produção de espécies reativas de oxigénio (ROS). Em primeiro, pode atuar sinergicamente com o TLR, para produzir várias citocinas, tais como interleucina (IL)-2 e IL-12, através da ativação do gene 88 de resposta primária de diferenciação mielóide (MyD88). Outra via de sinalização é mediada pela tirosina cinase do baço (Syk), que por sua vez ativa o complexo de domínio de recrutamento da caspase 9 (CARD9). Este complexo medeia a indução do NF- κ B, o que também conduz à produção de citocinas, tais como TNF- α e IL-12. Além disso, a Dectina-I pode desencadear respostas celulares aos β -glucanos independentemente dos TLRs, incluindo a fagocitose e *stress* oxidativo (16).

O recetor do complemento tipo 3 (CR3) é composto por domínios CD11b e CD18 e é expresso principalmente em neutrófilos, monócitos e células NK, mas não em macrófagos. O CR3 funciona como molécula de adesão e há evidências recentes de que também ativa o Syk. As células NK não têm recetor para a Dectina-I, de modo que o CR3 parece ser o principal recetor das células NK. (16) Este recetor tem a capacidade de reconhecer a opsonina iC3b, que se encontra frequentemente na superfície de células cancerígenas. A ligação simultânea do CR3 com o componente iC3b e β -glucano induz a estimulação da atividade fagocítica. A falta de qualquer um destes componentes impede a indução de citotoxicidade.

Vários dados sugerem que os polissacarídeos melhoram a capacidade das células do sistema imunitário reconhecer células cancerígenas como sendo estranhas, melhorando assim a eficácia dos mecanismos de defesa do hospedeiro (2).

6.2 Ação direta

As citocinas e o processo da apoptose desempenham papéis importantes na terapêutica do cancro. A apoptose, morte celular programada, é um fenómeno observado no tratamento antitumoral, o que pode levar a notáveis mudanças morfológicas nas células tumorais, tais como a condensação da cromatina, alterações da morfologia celular, e fragmentação do núcleo. Recentemente, uma série de investigações têm também demonstrado que os polissacáridos extraídos de cogumelos podem induzir a apoptose de células de cancro humano, para eliminar o tumor (17).

7 Exemplos de cogumelos imunoestimulantes

7.1 *Lentinus edodes* (Xitake)

O *Lentinus edodes* (Berck.) é da classe basidiomicetes e originário da China, Japão, Coreia e Indonésia. É denominado também por cogumelo-japonês, cogumelo preto do Japão, lentinus, “mycofarina”, shiita-ké (em japonês) e xitaque. Como é saprófito, vegeta sobre árvores em decomposição, principalmente do género *Quercus* e *Carpinus*. A palavra “shiitake” tem origem em duas palavras japonesas, shii (árvore asiática parecida com o carvalho) e ta-ké (cogumelo). Existem duas variedades, a “Koshin” e a “Donko”, sendo que a última tem mais polpa e maior concentração em constituintes ativos. A primeira referência histórica do seu consumo remonta a 199 a. C. e hoje em dia é muito utilizado na alimentação, e o seu extrato em fins medicinais. O principal constituinte ativo é o lentinano, um β -glucano de estrutura em tripla hélice, que possui uma cadeia principal composta por glucose com ligações β -(1 \rightarrow 3) com ramificações β -(1 \rightarrow 6) (18; 19). O lentinano tem um peso molecular de 500 kilodalton (kDa) e sua biodisponibilidade oral é bastante limitada (3; 20). Tem sido amplamente estudado e é considerado responsável pelos efeitos benéficos do xitaque (21). Este polissacarídeo é o constituinte mais ativo e tornou-se alvo de atenção para muitos investigadores, devido à sua baixa toxicidade e inúmeras propriedades farmacológicas, como atividade antitumoral, imunomodulatória, antioxidante, e redutora de lípidos no sangue (17).

As partes utilizadas são os micélios e os carpóforos secos, de onde se obtém um extrato aquoso, do qual por concentração e liofilização se obtém um pó com elevado teor em polissacarídeos (18).

O cogumelo fresco ou seco pode ser adquirido em supermercados, enquanto extratos do cogumelo seco são vendidos em cápsulas em ervanárias ou na internet. Para fins medicinais, são normalmente utilizados extratos com compostos do cogumelo xitake.

Este cogumelo tem sido amplamente consumido como alimento há milhares de anos no oriente e ultimamente, no ocidente. Têm sido realizadas investigações sobre as suas propriedades anticancerígenas, pelo menos, desde a década de 1960 (22). Os seus mecanismos antitumorais são mediados principalmente pelas células T e macrófagos.

Tradicionalmente, pensava-se que a atividade antitumoral do lentinano era apenas o reforço do sistema imunitário. No entanto, descobriu-se recentemente que pode também inibir o crescimento tumoral através de diferentes mecanismos, como indução da apoptose das células afetadas e morte direta das células tumorais (17). Um extrato aquoso de micélio e carpóforo de xitaque demonstrou, através de um estudo *in vitro*, que o mesmo possui não

só atividade citostática (inibição do crescimento celular), como também citotóxica, através da atividade tóxica direta nas células cancerígenas. Por outro lado, não houve supressão significativa em células normais. Além disso, extratos aquosos do carpóforo são mais citotóxicos do que extratos aquosos do micélio (23).

O uso concomitante de extratos de *Lentinus edodes* com quimioterapia, pode diminuir a incidência dos efeitos adversos da mesma. Através de um estudo realizado em 8 doentes com cancro (um gástrico e sete coloretal), verificou-se que ao fim de 4 semanas de ingestão oral de 1,8 gramas por dia, diminuiu a incidência de efeitos adversos, causados pela quimioterapia (24). Para além disso, através de uma meta-análise, verificou-se que pode prolongar o tempo de sobrevivência de doentes com cancro no estômago num estado avançado, em combinação com quimioterapia (16).

Os extratos do micélio de *Lentinus edodes* (L.E.M) são utilizados como modificadores de resposta biológica, por via oral, em doentes oncológicos. A sua efetividade foi avaliada em 20 doentes com cancro da mama, em pós-operatório. Os mesmos receberam terapia hormonal durante 4 semanas e nas 8 semanas seguintes receberam terapia hormonal em conjunto com L.E.M. Enquanto nas primeiras 4 semanas não se verificou alterações nas qualidade de vida e nos níveis de citocinas, durante a terapia combinada ocorreu uma melhoria destes parâmetros. A ingestão oral de L.E.M, tem vindo a demonstrar ser eficaz na recuperação da supressão das respostas do sistema imunitário provocadas pela quimioterapia. Através deste estudo, sugere-se também que há um aumento da imunidade em geral, mas apenas nos casos de imunossupressão (25).

Através de um ensaio clínico aberto, realizado em 62 homens com cancro na próstata, concluiu-se que uma terapêutica oral constituída unicamente por extratos do cogumelo xitake não é suficiente para baixar os níveis de PSA. Apesar do número de doentes que procuram medicinas alternativas complementares estar a aumentar, a pesquisa em relação aos padrões de utilização e eficácia não é vasta (26).

7.2 *Grifola frondosa* (Maitake)

Este cogumelo, da classe Basidiomicetes, e da espécie frondosa, é nativo das montanhas do nordeste do Japão. Em japonês, “mai” significa dança e “take” cogumelo, designando assim um "cogumelo dançante". É também conhecido como “galinha do mato” e cresce em cachos, na base de árvores de grande porte. O carpóforo pode atingir os 60 cm, e é composto por várias tampas cinzento-acastanhado. Tal como o xitake, é também

utilizado como alimento. A fração-D é utilizada como suplemento alimentar. A substância que se pensa ser ativa no ser humano é o β -glucano. Este encontra-se tanto no cogumelo, como na fração-D, e é um polissacarídeo de elevado peso molecular. Pode também ser encontrado em diversos cogumelos, leveduras e outros alimentos (27; 28; 29).

Extratos de maitake estão comercialmente disponíveis como suplementos alimentares, para melhorar a função imunológica e para o tratamento de vírus da imunodeficiência humana (HIV) e do cancro (27). Nos últimos 40 anos, têm sido isoladas várias frações deste cogumelo no Japão, com o objetivo de encontrar β -glucanos com potenciais propriedades medicinais (30).

A fração-D bioativa é uma forma padronizada de compostos isolados, contendo β -glucanos (beta-1,6 glucano e beta-1,3 glucano) e proteínas, com um peso molecular de cerca de 1.000.000 dalton. A sua estrutura é única e complexa, contendo tanto cadeias principais 1,6 com ramificações 1,3, como cadeias principais 1,3 com ramificações 1,6 (29). É biologicamente ativa quando administrada por via oral, demonstrando atividade *in vitro* e em modelos animais com cancro. No entanto, a sua atividade nestes sistemas experimentais, não indica necessariamente a sua eficácia anticancerígena em humanos (3).

Entre as várias frações de maitake que foram preparadas, a fração-D demonstrou ser a mais potente, no sentido de melhorar o sistema imunitário, o que conduz à maior diminuição da velocidade de proliferação do cancro (31). Mais tarde, através da purificação adicional da fração D, obteve-se a fração MD, que possui as mesmas configurações de β -glucanos (30; 29). Também foi analisada a possibilidade de proceder a modificações químicas, como a fosforilação, o que se verificou ser um bom método para potenciar a capacidade anticancerígena do maitake (32).

A administração oral da fração MD pode revelar-se um bom suplemento alimentar para indivíduos saudáveis, para prevenir o aparecimento de cancro, ou então, no caso de doentes oncológicos, pode tornar-se um bom adjuvante na terapia. No entanto, como as enzimas digestivas dos mamíferos não digerem os β -glucanos, o mecanismo através do qual o fração MD é absorvida no trato gastrointestinal, e como melhora a resposta do sistema imunitário, é ainda desconhecido. O primeiro efeito é provavelmente observado ao nível do tecido linfóide associado ao intestino (GALT). Geralmente, as células M na mucosa intestinal, funcionam como um portal para a absorção de antigénios do lúmen intestinal e consequente transferência para as Placas de Peyer (PP). Pensa-se que os eventos moleculares das PP e dos nódulos linfáticos mesentéricos (MLNs), após a administração oral de antigénios, induzem a

resposta imune adaptativa. Embora a fração MD possa induzir hematopoiese e aumentar a indução de citocinas, há evidência de que pode também induzir imunidade antitumoral. Esta é iniciada por células dendríticas, através do mecanismo dectina-I, induzindo a diferenciação das células CD4⁺ Th1 e Th17 (33).

A popularidade do maitake deve-se, em grande parte, ao seu uso na medicina tradicional chinesa, como imunomodulador. Tem vindo a ser comercializado em cápsulas, comprimidos ou extrato líquido. As doses diárias recomendadas variam entre 0.5 a 1 mg/kg, de forma repartida (30).

Muitos doentes oncológicos usam extratos de maitake como suplemento alimentar, como tentativa de melhorar as capacidades do sistema imunitário. Embora estudos pré-clínicos sugiram que extratos deste cogumelo possa ter atividade anti-tumoral, não há ainda evidência clínica de estudos de rigorosamente projetados, com determinados objetivos terapêuticos (34).

Os efeitos adversos causados por cogumelos medicinais são raros. No entanto, como o maitake pode interferir com agentes imunossupressores (diminuindo os seus efeitos terapêuticos), e pode também ter efeitos hipoglicémicos, é necessário haver precaução com a sua utilização, ou de outro suplemento alimentar à base de cogumelos medicinais (27; 35).

A fração-D do maitake demonstra possuir actividade antitumoral, através da indução da expressão de genes apoptóticos. Através da incubação de fração-D isolada do maitake, com células cancerígenas humanas, presentes no cancro da mama, verificou-se o aumento da produção de BAK-1 e a transcrição de citocromo c (cit c), sendo que estas proteínas estão diretamente envolvidas no processo apoptótico (31).

Num estudo, em que se avaliou os efeitos antitumorais diretos de um extrato de maitake, em quatro culturas de células derivadas do cancro gástrico humano, detetou-se claramente a diminuição da viabilidade celular. O extrato de maitake induziu a apoptose, principalmente numa das culturas, através do mecanismo dependente da caspase 3 ou independente, demonstrando potenciais efeitos antitumorais no cancro do estômago (36).

Os fármacos anticancerígenos disponíveis não atuam simplesmente nas células cancerígenas. Pelo contrário, são extremamente tóxicos, matando as células malignas e as normais. Os efeitos adversos são mais intensos ao nível das células hematopoiéticas, mucosa gastrointestinal, gónadas e pele. Num estudo realizado em camundongos portadores de cancro, verificou-se ser vantajosa a associação de imunoterapia a quimioterapia, uma vez que a fração-D demonstrou aumentar a proliferação, diferenciação e ativação de células

imunocompetentes, podendo proporcionar um benefício clínico aos doentes oncológicos (37).

Uma das principais limitações da quimioterapia é a mielotoxicidade. Um estudo realizado em camundongos teve como objetivo determinar se um extrato de β -glucano de *G. frondosa* ativo por via oral, pode estimular a hematopoiese e melhorar a recuperação dos leucócitos, assim como a função dos monócitos, após uma intensiva dose de paclitaxel.

Através deste estudo, foi possível concluir que a administração oral de um extrato de *G. frondosa* do início ao fim da quimioterapia, foi tão efetivo como uma única dose de G-CSF (fator de estimulação das colónias de granulócitos) administrado por via intravenosa, após a última dose de paclitaxel, na redução de leucopenia induzida pela quimioterapia (38).

Um ensaio clínico não randomizado, usando uma combinação de fração-MD e maitake em comprimidos, foi realizado para determinar a sua eficácia em 36 doentes, com idades compreendidas entre os 33 e os 68 anos de idade, com cancro num estado avançado. O início do tratamento com maitake ocorreu após descontinuação da quimioterapia, devido a efeitos laterais da mesma. A regressão do cancro, ou a melhoria significativa dos sintomas foi observada em 11 dos 16 doentes com cancro da mama, 7 dos 12 doentes com cancro no fígado e em 5 dos 8 doentes com cancro no pulmão (39).

O maitake é largamente utilizado na terapêutica oncológica (30). Num estudo realizado em 34 mulheres pós-menopáusicas, que tiveram cancro da mama, foi administrado oralmente um extrato líquido de maitake duas vezes por dia, durante três semanas. Não ocorreu nenhum evento adverso grave durante o período de estudo, nem foi encontrada nenhuma dose tóxica. A dose de 5-7 mg / kg por dia foi associada às alterações funcionais mais relevantes, tais como o aumento da produção de IL-2, IL-10, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e fator de necrose tumoral gama (IFN- γ).

O extrato de maitake parece ter um efeito estimulante sobre alguns parâmetros e supressor sobre os outros, e os dados recolhidos neste estudo demonstram que a dose máxima tolerável de produtos fitoquímicos, especialmente aqueles que funcionam como imunomoduladores, pode não ser a que produz efeitos clínicos máximos. Outra descoberta notável é que o extrato de maitake parece estar associado à produção de ambas as citocinas, estimulantes (IL-2) e supressivas (IL-10) (34).

7.3 *Coriolus versicolor*

Coriolus versicolor (anteriormente designado por *Trametes versicolor* ou *Polyporus versicolor*) é um cogumelo que cresce em troncos de árvores mortas, pertence à classe Basidiomicetes e à família Polyporaceae. Tem sido muito valorizado no oriente, sendo que no Japão é conhecido como kawaratake ("cogumelo pela margem do rio"), e na China é chamado Yun Zhi ou "fungo nuvem". Em alguns países da Europa, é denominado "cauda de peru", devido à sua forma em leque. É dividido em tons de castanho, branco e cinza, na superfície superior. O fungo surge ao longo das zonas temperadas arborizadas da Ásia, Europa e América do Norte (3; 40; 41).

No Compêndio de Matéria Médica Chinesa estão descritas mais de 120 estirpes de *C. versicolor*. Segundo a Medicina Tradicional Chinesa, é útil para eliminar toxinas do organismo, fortalecer o estado físico, aumentar a energia e melhorar a função imune do hospedeiro. É também indicado em vários tipos de cancro, hepatite crónica, e infeções do trato respiratório superior, urinário e digestivo (40).

Os proteoglicanos derivados do cogumelo são cadeias polipeptídicas ou pequenas proteínas, aos quais o β -D-glucano está estavelmente ligado. Até agora, o polissacarídeo K (PSK) e o polissacarídeo-peptídeo (PSP) são os únicos dois proteoglicanos investigados no tratamento de cancros humanos (3). Tanto o PSP como o PSK têm aproximadamente 100 kDa, com uma região de β -D-glucano bioativo, ligado a um núcleo proteico. A fração de polissacarídeo do PSP inclui glicose, manose, xilose, galactose, arabinose e pequenas quantidades de resíduos de ramnose. A análise da fração de polissacarídeo do PSP, revela uma predominância de ligações glicose 1 \rightarrow 4, 1 \rightarrow 2 e 1 \rightarrow 3, em conjunto com pequenas quantidades de ligações de galactose 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4 e 1 \rightarrow 6, ligações 1 \rightarrow 3 e 1 \rightarrow 6 de manose e ligações de arabinose 1 \rightarrow 3 e 1 \rightarrow 4. A fração peptídica do PSP contém 18 aminoácidos diferentes, sendo o aspártico e o glutâmico os predominantes (42). O PSK é 1,3 e 1,6-monoglucosil, com ramificações 1,4- β -D-glucano, ligado a ácido aspártico, glutâmico e outros aminoácidos (6).

O PSK e o polissacarídeo-peptídeo PSP, têm vindo a ser estudados como possíveis meios de tratamento complementares de cancro.

O *C. versicolor* faz parte da medicina tradicional asiática há séculos. Na década de 1980, o governo japonês aprovou o uso de PSK para o tratamento de vários tipos de cancro. Nesse país, o PSK é o anticancerígeno mais vendido. É utilizado em complementaridade com cirurgia, quimioterapia e radioterapia. O PSP foi descoberto posteriormente, e tem vindo a

ser estudado principalmente na China (43). Tanto o PSP, como o PSK são obtidos dos micélios do *C. versicolor*. São quimicamente semelhantes e possuem perfis de atividade fisiológica similar. O PSK é obtido da estirpe CM-101 do *C. versicolor* e o PSP da estirpe Cov-1 (41).

Das terapêuticas derivadas de cogumelos, os polissacarídeos provenientes do *C. versicolor* são os melhores estabelecidos comercialmente. Para além das suas aplicações médicas, é utilizado para degradar poluentes orgânicos, como o pentaclorofenol. Nas práticas de medicina tradicional chinesa e japonesa, o *C. versicolor* era colhido, seco, moído e transformado em infusão. As suas propriedades curativas não passaram despercebidas pelos cientistas desses países, e assim começou uma extensa investigação clínica com extratos de *C. versicolor*. Curiosamente, a dose de polímeros ativos utilizada na infusão tradicional, é semelhante à utilizada na prática clínica nos dias de hoje (41).

Recentemente, tem vindo a ser demonstrado, tanto a nível pré-clínico, como clínico, que os extratos aquosos obtidos a partir do *Coriolus versicolor* possuem várias atividades biológicas, incluindo efeitos estimulantes em células do sistema imunológico e inibição do desenvolvimento cancerígeno. A crescente popularidade dos extratos aquosos do *C. versicolor* como terapia adjunta às convencionais, tem gerado um elevado interesse comercial no desenvolvimento desses extratos, em produtos orais com eficácia (40).

O extrato de *C. versicolor* (CV) possui efeitos citotóxicos em situações de leucemia, linfoma e células do cancro da mama através da indução da apoptose. Este processo é altamente regulado que envolve a ativação de uma cascata de eventos moleculares que conduzem à morte celular. São conhecidas duas vias de apoptose, a apoptose mediada por recetor e o mecanismo mediado pela mitocôndria, o que finalmente envolve a ativação das caspases numa cascata comum para a clivagem de substratos de morte celular. A mitocôndria desempenha um papel chave na ativação e amplificação da cascata de caspase através da libertação de cit c do espaço intermembranar, tratando-se de um sinal essencial para iniciar eventos irreversíveis na morte celular programada. Num estudo, realizado numa linha de células pró-mielocíticas de leucemia (HL-60), verificou-se que um extrato de CV induz a apoptose nessas células, através desse mecanismo, com promoção da libertação do cit c para o citoplasma. Para além do mais, esse extrato atenuou significativamente o crescimento de leucemia humana induzida em camundongos atímicos, *in vivo*. Estes resultados demonstram que o extrato de CV tem um potencial valor terapêutico para o tratamento de algumas formas de leucemia (44).

Para analisar se o PSK intensificava a apoptose induzida por docetaxel e aumentava as respostas imunitárias anti-tumorais, utilizou-se adenocarcinoma transgênico da próstata de camundongo. Ao combinar PSK com docetaxel, ocorreu uma supressão tumoral significativamente maior do que em qualquer tratamento isolado, incluindo uma redução na proliferação do tumor e aumento da apoptose. Deu-se uma menor redução do número de glóbulos brancos, efeito acompanhado por um aumento do número de células T CD4⁺ e CD8⁺. Para além do mais, o PSK sozinho ou em combinação com o docetaxel, induziu significativamente a expressão de mRNA de IFN- γ , comparativamente ao controlo (45).

Através de um estudo que avaliou a atividade antitumoral de um extrato de *C. versicolor* em quatro culturas de células do cancro da mama, demonstrou-se que o mesmo suprimiu, através de um mecanismo dose-dependente, a proliferação de três das culturas de células. Os resultados sugerem que os efeitos antiproliferativos *in vitro* do extrato do *C. versicolor* são mediados através da indução da apoptose, a qual é por sua vez, diferencialmente regulada, dependendo da expressão de p53 e Bcl-2 (46).

No Japão, o PSK é prescrito frequentemente em doentes oncológicos, durante e após tratamentos com quimioterapia e radioterapia. Também é prática comum entre naturopatas e oncologistas dos EUA, prescrever liofilizados de *Coriolus versicolor* em doentes com cancro da mama. Recentemente, realizou-se um ensaio clínico de fase I, em 11 participantes do sexo feminino (sendo que 9 concluíram o estudo), com cancro da mama, após realização de quimioterapia e radioterapia, com o objetivo de avaliar a segurança e tolerabilidade do *C. versicolor*. Cada grupo compreendeu 3 participantes, onde se procedeu à administração oral de 3, 6, ou 9 gramas de uma preparação de *Coriolus versicolor* durante 6 semanas. Três gramas por dia é a dose normalmente utilizada, e doses elevadas como nove gramas, são utilizadas no Japão. No presente estudo, as três doses demonstraram ser bem toleradas e as participantes não revelaram dificuldades em engolir nove cápsulas três vezes por dia. A radioterapia provoca uma diminuição acentuada nos níveis de linfócitos. As duas doses orais mais elevadas (6 e 9 g) de *C. versicolor* promoveram uma recuperação mais rápida da contagem de linfócitos, relativamente a um grupo observacional. Para além disso, verificou-se também uma rápida recuperação da atividade das células NK, importantes a nível citotóxico (47).

Num estudo realizado em 349 doentes com cancro no estômago, em que 225 receberam apenas tratamento com quimioterapia, e 124 receberam quimioterapia e também fizeram tratamento com PSK, durante 49 meses, pretendeu-se avaliar a correlação entre a

expressão do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) classe I e a eficácia do PSK como terapia adjuvante. Apesar de nos doentes com MHC classe I positivo, ter havido um prognóstico mais desfavorável para o grupo com PSK, no caso de doentes com MHC classe I negativo e também nos que apresentavam metástases nos nódulos linfáticos, o grupo com PSK apresentou um prognóstico mais favorável.

A progressão do cancro e a invasão do sistema imunitário são conhecidos por estarem marcadamente correlacionados. Os linfócitos T citotóxicos (CTLs) desempenham um papel central nas respostas imunes ao cancro. Os seus recetores reconhecem os complexos de antigénio de MHC classe I na superfície das células cancerígenas e atacam-nas. No entanto, a expressão de MHC classe I em células cancerígenas é reduzida. O PSK induz a produção de IL-8 por reação com os monócitos em circulação, e também ativa CTLs e provoca a maturação de células dendríticas (48).

Inclusivamente, denotou-se um acentuado interesse em Portugal, nos benefícios do *C. versicolor* a nível oncológico. O Doutor José Silva Couto, chefe de serviço de Ginecologia do Instituto Português de Oncologia (IPO), provou a eficácia deste cogumelo na prevenção do cancro do colo do útero. Com o objetivo de avaliar o efeito terapêutico em doentes portadoras de lesões cervicais por HPV (LSIL), um grupo de 43 doentes portadoras das mesmas, foram divididas entre dois grupos, de forma aleatória. O primeiro, constituído por 18 doentes, foi submetido a uma terapêutica com *C. versicolor* durante um ano com uma dose de 3 gramas por dia, e o segundo, constituído por 22 doentes, não efetuou nenhuma terapêutica, constituindo o grupo controlo. Nas doentes que efetuaram a terapêutica com *Coriolus versicolor*, a lesão regrediu ao fim de um ano em 72,5% dos casos, enquanto no grupo controlo regrediu em 47,5% dos casos. Por outro lado, 22 das 39 doentes que concluíram o estudo apresentavam HPV+ de alto risco. Destas, 10 efetuaram a terapêutica com *Coriolus versicolor*, e 12 não efetuaram qualquer terapêutica (grupo controlo). O grupo que efetuou a terapêutica, tornou-se negativo em 90% dos casos ao final de um ano, enquanto o grupo controlo se tornou negativo em apenas 8,5% dos casos (49).

Os efeitos do PSP são menos conhecidos do que o PSK, devido ao menor número de estudos. As suas ações imunomodulatórias incluem aumento de citocinas pro-inflamatórias, como o INF- γ , interleucinas, como a IL-2, atividade das células NK, ativação do complemento-3 e proliferação das células T. Apesar de ter vindo a ser usado como adjuvante em quimioterapia, e ter vindo a demonstrar efeitos anti-tumorais e imunomodulatórios, o seu mecanismo de ação permanece desconhecido (42; 50).

Foi possível analisar *in vitro*, que o PSP provoca o aumento da proporção de monócitos (CD14⁺/CD16⁻). Os monócitos diferenciam-se em células dendríticas (DC), e representam os precursores de DCs localizadas em áreas de captura de antígenos (42).

Para além de o PSP já ter demonstrado promover a indução da apoptose e inibição do crescimento de um variado número de células cancerígenas, como em situações de cancro da mama, fígado e da próstata, recentemente, tem vindo a ser também conotado como quimiopreventivo, em relação ao último. As células progenitoras do cancro da próstata são responsáveis pela iniciação do desenvolvimento cancerígeno, assim como a progressão da doença. A terapêutica convencional é apenas efetiva contra células cancerígenas diferenciadas, e não contra as células progenitoras. Foi demonstrado *in vitro* que o PSP tem como alvo as células progenitoras do cancro da próstata e *in vivo*, que suprime a formação do tumor, através de um estudo feito em camundongos. A quimioprevenção pode constituir a estratégia ideal para combater o cancro da próstata, e o PSP um importante meio de a conseguir (51).

A angiogénese corresponde à formação de novos vasos sanguíneos, a partir de outros pré-existentes. Como tal, é crucial na progressão de um tumor, e a sua interrupção fundamental como intervenção terapêutica. Num estudo realizado em camundongos, avaliou-se a capacidade do polissacarídeo PSP inibir a angiogénese e pretendeu-se elucidar os possíveis mecanismos de ação. Os animais tratados com PSP foram comparados com um grupo controlo, avaliando-se o estado da expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que desempenha um papel importante na angiogénese. No grupo de tratamento, confirmou-se os efeitos anti-angiogénicos do PSP, e a expressão de VEGF foi muito menor do que no grupo controlo, o que leva à inibição do crescimento do tumor (52).

Num estudo piloto de fase II randomizado e duplamente cego, realizado em 68 doentes com cancro no pulmão, demonstrou-se os efeitos benéficos do PSP. O grupo experimental fez uma terapêutica com três cápsulas por dia (340 mg cada) de PSP purificado, enquanto o grupo controlo ingeriu três cápsulas por dia (340 mg cada) de sacarose cristalizada, durante quatro semanas. Não se verificou a ocorrência de nenhuma reação adversa aparente, a nível clínico ou sanguíneo. Por outro lado, houve uma melhoria significativa na contagem de leucócitos no sangue e de neutrófilos, IgG e IgM sérica, e percentagem de gordura corporal, o que não se verificou entre os doentes do grupo placebo. Como os doentes com cancro do pulmão, com redução de IgG e IgM, têm menor tempo de sobrevivência e infeções pulmonares mais frequentes, esta demonstração de melhoria

pode ser benéfica para esses doentes. Para além disso, foram retirados do estudo significativamente menos doentes tratados com PSP, em comparação com o placebo, devido à progressão da doença (50).

Tanto o PSK como o PSP têm grande interesse como adjuvantes da quimioterapia ou radioterapia. Melhoram a eficácia terapêutica e tolerância (redução de efeitos adversos), retardam o crescimento do tumor e tendem a evitar as metástases (6).

7.4 *Ganoderma lucidum* (Reishi)

Ganoderma lucidum (Ling-zhi em Chinês e Reishi em Japonês) é um cogumelo medicinal da classe basidiomicetes, largamente utilizado na medicina tradicional, particularmente na China, Japão e Coreia. Acreditava-se que o seu consumo regular, sob a forma de infusão ou em pó, preservava a vitalidade humana e promovia a longevidade.

O carpóforo do *G. lucidum* já foi considerado uma panaceia na antiga China. Em algumas lendas antigas, foi frequentemente descrito como uma droga mágica que poderia trazer os mortos de volta à vida (11; 53).

Várias classes de substâncias bioativas têm sido isoladas e identificadas a partir de *G. lucidum*, como triterpenóides, polissacarídeos, nucleósidos, esteróis e alcalóides. Entre esses componentes, os polissacarídeos foram identificados como um dos seus principais componentes bioativos, demonstrando vários efeitos farmacológicos, como imunomodulação, anti-oxidação, hepatoproteção, anti-proliferação, e anti-angiogénese. Recentemente, muitos investigadores se têm incidido sobre os efeitos anti-tumorais e obtiveram dados promissores, tanto *in vivo* como *in vitro* (53). Os seus polissacarídeos têm um peso molecular de cerca de 500 kDa, e interferem diretamente com monócitos, células NK e linfócitos T. Estes efeitos podem advir das suas estruturas complexas de heteroglucanos ou peptido-glucanos (54). Enquanto os polissacarídeos estimulam o sistema imunitário, através da produção de citocinas e ativação de processos anti-cancerígenos pelas células do sistema imune, os triterpenóides do *G. lucidum* suprimem diretamente o crescimento e a invasão das células cancerígenas, através da sua atividade citotóxica (11; 55).

A maioria dos estudos realizados com o *G. lucidum* focam-se em determinar os efeitos de um dos seus compostos, em vez de todo o cogumelo, como suplemento alimentar. Um estudo avaliou o efeito de todo o cogumelo, numa cultura de células do cancro da mama inflamatório. De facto, comprovou-se que inibe seletivamente a viabilidade e invasão das células cancerígenas. *G. lucidum* induz a apoptose e regula negativamente a

expressão génica que determina a sobrevivência das células cancerígenas e a sua invasão (56). Recentemente, foi também comprovado *in vivo*, em camundongos, que um tratamento à base de *G. lucidum* reduz significativamente o crescimento do tumor, assim como o seu tamanho (55).

Este cogumelo é um dos mais utilizados na Ásia e estudos pré-clínicos indicam que as suas frações de polissacarídeos têm fortes ações imunomoduladoras. No entanto, a evidência clínica ainda é escassa. Num ensaio clínico aberto, realizado em 41 doentes com cancro coloretal, durante 12 semanas, avaliou-se os efeitos da administração oral de 5,4 g/dia de *G. lucidum*. Os resultados do mesmo sugerem que pode atuar como um potenciador do sistema imunitário do hospedeiro, podendo representar uma terapia adjunta prática e promissora no tratamento de cancro, em combinação com quimio ou radioterapia (57).

As propriedades anti-tumorais e imunomoduladoras do *G. lucidum*, juntamente com a baixa citotoxicidade, levantam a possibilidade de que poderia ser eficaz em doentes com cancro, que recebem tratamento convencional com quimioterapia e/ou radioterapia, para promover o aumento da atividade imunológica e diminuir a toxicidade (58). No entanto, foram relatados casos em que o tratamento oral a longo prazo com polissacarídeos do *G. lucidum* induziu alergia, como por exemplo, erupções cutâneas e asma, e efeitos colaterais gastrointestinais, como náuseas, vômitos e diarreia. Assim, os efeitos adversos constituem uma preocupação, pelo que é necessária uma maior evidência clínica, para estabelecer uma duração de tratamento segura, assim como a dose (57).

7.5 *Inonotus obliquus* (Chaga)

O fungo *Inonotus obliquus* (*I. obliquus*) pertence à família de Hymenochaetaceae, da classe basidiomicetes, sendo também conhecido por *Fuscoporia oblique* ou Chaga (na Rússia). Irrompe através dos troncos das árvores e aparece como grandes estruturas vesiculares semelhantes, com tamanhos que variam entre 5 a 40 cm de diâmetro. A superfície é muito irregular, rachada e profundamente fissurada, que se assemelha a carvão queimado. Por dentro, possui uma cor enferrujada e textura lenhosa, constituída por micélios entrelaçados. Habita preferencialmente em troncos vivos de bétula madura, como *Betula platyphylla* Suk, *Grebillea robusta* A Cunn ex R.Br, e raramente em *Ulmus pumila* L. e *Alnus japonica*. O esclerócio pode sobreviver até seis anos no tronco de árvores derrubadas e o seu micélio pode tolerar temperaturas de até -40°C. Este fungo é restrito a habitats frios, incluindo América do Norte, Finlândia, Polónia, Rússia, nordeste da China e do Japão (10). Desde há

muito que tem sido popularmente usado para tratar cancro gastrointestinal, doenças cardiovasculares e diabetes, pelas populações, na Rússia e países da Europa de Leste (14). Como constituintes ativos, foram encontrados triterpenos, polissacarídeos, polifenóis e melanina (59). Desde o século XVI, os esclerócios do fungo "Chaga", com poucos efeitos tóxicos colaterais, têm sido amplamente utilizados como um tratamento popular para o cancro, doenças do sistema digestivo e tuberculose na Rússia e Sibéria ocidental. Além do mais, vários estudos relataram que *I. obliquus* pode prevenir e curar o HIV, promover o anti-envelhecimento, reduzir a pressão arterial, melhorar os sintomas físicos provocados por alergia e fortalecer o sistema imunitário do organismo (10).

Apesar de se ter tornado num importante recurso no desenvolvimento de novos meios para o tratamento do cancro, as condições de habitat severas e a velocidade de crescimento extremamente lenta, gera recursos naturais limitados, e torna o seu cultivo difícil (10).

Foi demonstrado *in vitro*, em esplenócitos e macrófagos de rato, que os polissacarídeos existentes no *I. obliquus* podem aumentar a atividade imunoestimulante, como a proliferação celular, a libertação de moléculas tóxicas, aumentar a atividade fagocítica, e a secreção de citocinas. Para além disso, esses polissacarídeos promoveram a ativação das proteínas cinases ativadas por mitogénio (MAPKs) e do fator nuclear-kB (NF-kB), mediados pelos macrófagos. *In vivo*, provou-se que têm a capacidade de suprimir o crescimento de melanoma, em camundongos (8).

7.6 Agaricus blazei Murill

Este cogumelo comestível, também da classe Basidiomycetes, e da família Agaricaceae, é nativo do Brasil (60; 61). Aí, é conhecido como o "cogumelo do sol", no Japão como himematsutake, agarikusutake ou kawarihiratake, e na China como Ji Song Rong. Tem sido tradicionalmente usado no Brasil para prevenção do cancro, diabetes, hiperlipidémia, arteriosclerose e hepatite crónica. Foi levado até ao Japão devido aos seus efeitos benéficos para a saúde, e hoje em dia, é utilizado pelos países orientais como comida funcional para prevenir e tratar doenças cancerígenas (13; 60).

Os β -glucanos extraídos do *A. blazei* são formados principalmente por cadeias de D-glucose com ligações β (1 \rightarrow 3), com ramificações β (1 \rightarrow 6). Estes compostos, para além de terem capacidade imunomodulatória, têm-se descoberto terem atividade antimutagénica, antigenotóxica, antitumoral e antiteratogénica. Além do mais, a suplementação com *A. blazei*

em diferentes formas de extração e concentração, não produz atividade genotóxica nem mutagénica, pelo que a sua toma não constitui um risco para a saúde (13). Para além dos β -glucanos, também o proteoglicano e o ergosterol existentes no *A. blazei* têm vindo a demonstrar atividade anticancerígena, através da inibição direta da angiogénese induzida por tumores sólidos (62; 63).

A nível do sistema imunitário, o *A. blazei* tem a capacidade de modular o sistema imune inato e adaptativo, através do aumento do número ou função das células NK, linfócitos T citotóxicos e macrófagos (64).

Através de uma investigação realizada em linhas celulares, não se observou atividade antiproliferativa ou citotóxica, resultantes de extratos aquosos de *A. blazei* cru. Os resultados podem dever-se ao facto de ser usualmente consumido através de infusão, para prevenção e tratamento de cancro. Assim, quando é consumido normalmente na dieta, não apresenta efeito protetor (64).

O β -glucano inibe o crescimento do sarcoma 180 em camundongos. O sarcoma 180 (S80), é um tumor originado em camundongos, e um dos mais frequentemente utilizados, para fazer investigações *in vivo* (65; 66).

O cancro da próstata é o mais comum a afetar os homens na América do Norte e o quarto mais comum entre os homens japoneses. Nesse país, os extratos de *A. blazei* são os mais utilizados em medicina complementar e alternativa, para esse tipo de cancro. Estudos realizados *in vitro* e *in vivo* demonstram que o cogumelo inibe a proliferação celular, tanto em cancro da próstata dependente de androgénio, como independente, e impede o crescimento do tumor (65; 67). No entanto, num ensaio clínico aberto, em que 51 doentes tomaram suplementos contendo extratos de *A. Blazei* ou *G. lucidum*, não se observou efeitos anticancerígenos significativos (67). Tal significa que é necessário uma realização mais ampla de ensaios clínicos, para chegar a resultados conclusivos.

8 Conclusão

Todos estes produtos são vendidos em Portugal como suplementos alimentares. A sua introdução no mercado não está dependente de avaliação e de estudos de eficácia, segurança e qualidade, nem está sujeito a um sistema nacional de vigilância, ao contrário dos medicamentos (68). Poderá haver problemas relacionados com a qualidade, como a contaminação de uma espécie cultivada por infestantes, a presença de contaminantes, a adulteração com produtos farmacêuticos, bem como a toxicidade intrínseca e a interação

com medicamentos. Os suplementos alimentares são géneros alimentícios e não medicamentos. Não apresentam, por isso, juntamente com a embalagem, uma lista de reações adversas ou de contraindicações ao seu consumo. Existe uma crença generalizada de que produtos à base de plantas ou outros produtos naturais, estão isentos de efeitos adversos. Isto não é necessariamente verdade, uma vez que se conhece a existência de espécies tóxicas. Como não são medicamentos, o seu consumo pode estar apenas dependente da opção do consumidor, sem a existência de aconselhamento médico ou farmacêutico, para avaliar quer a necessidade de consumo, quer a adequação de um determinado suplemento ao consumidor. Esta avaliação deve ter em conta a história clínica pessoal, assim como a medicação que se possa estar a fazer (69).

Vários cogumelos medicinais têm potencial para poderem vir a ser comercializados como medicamentos, em vez de suplementos. Para isso, é necessário a realização de um maior número de ensaios clínicos, que comprovem a eficácia e segurança dos produtos em humanos. Por enquanto, ainda é reduzido o número de ensaios clínicos, e o número de doentes a participar em cada um deles é pouco significativo. Neste sentido, é que se torna primordial avançar com mais pesquisas. Deste modo, talvez no futuro, entraremos com uma nova geração de adjuvantes da terapêutica em oncologia. Não só se dava o merecido estatuto a estes produtos, como também se fazia com que houvesse um maior controlo e acompanhamento na sua utilização, uma vez que muitos dos produtos já referidos, são maioritariamente vendidos em ervanárias e não em farmácias, ou seja, os consumidores que os adquirem não recebem qualquer tipo de informação nem acompanhamento profissional. Mais grave ainda, é a facilidade com que se adquire na internet, sem a noção de que podem trazer inúmeros prejuízos para a saúde, se não forem corretamente aconselhados.

Os estudos são, até agora, promissores. Resta investir mais nesta área, que apesar de ser dominada há milénios na medicina tradicional oriental, está apenas agora a emergir a nível científico, que se baseia em dados muitos rigorosos e concretos, e não apenas no conhecimento empírico.

9 Bibliografia

1. WASSER, S.P. - **Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides.** Appl Microbiol Biotechnol, 60 (2002) 258-274.
2. LEMIESZEK, M.; RZESKI, W. - **Anticancer properties of polysaccharides isolated from fungi of the Basidiomycetes class.** Wspolczesna Onkol, 16 (2012) 285-289.
3. KIDD, M. - **The Use of Mushroom Glucans and Proteoglycans in Cancer Treatment.** 5 82000) 4-27.
4. JIANG, J.; SLIVA, D. - **Novel medicinal mushroom blend suppresses growth and invasiveness of human breast cancer cells.** International Journal of Oncology, 37 (2010) 1529-1536.
5. MIZUNO, M.; NISHITANI, Y. - **Immunomodulating compounds in Basidiomycetes.** J. Clin. Biochem. Nutr, 52 (2013) 202-207.
6. FERREIRA, I.; VAZ, J.A.; VASCONCELOS, M.H.; MARTINS, A. **Compounds from Wild Mushrooms with Antitumor Potential.** Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry, 10 (2010) 424-436.
7. WASSER, S.P. - **Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms.** Appl Microbiol Biotechnol, 89 (2011) 1323-1332.
8. WON, D.P.; LEE, J.S.; KWON, D.S.; LEE, K.E.; SHIN, W.C.; HONG, E. - **Immunostimulating Activity by Polysaccharides Isolated from Fruiting Body of *Inonotus obliquus*.** Molecules and Cells, 31 (2011) 165-173.
9. HAN, S.R.; CHO, C.; LEE, Y.; YOO, H. - **Antimetastatic and Immunomodulating Effect of Water Extracts From Various Mushrooms.** J Acupunct Meridian Stud, 2 (2009) 218-227.
10. SONG, F.; LIU, Y.; KONG, X.; XANG, W.; SONG, G. - **Progress on Understanding the Anticancer Mechanisms of Medicinal Mushroom: *Inonotus Obliquus*.** Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 14 (2013) 1571-1578.
11. SLIVA, D. - ***Ganoderma lucidum* in cancer research.** Leukemia Research, 30 (2006) 767-768.

12. **Explorando a bioatividade dos cogumelos: propriedades antitumorais, antioxidantes e antimicrobianas.** - VI Simpósio Nacional Sobre Cogumelos Comestíveis. Brasil, 15 de Outubro de 2013,
13. ISHII, P.L.; PRADO, C.K.; MAURO, M.O.; CARREIRA, C.M.; MANTOVANI, M.S.; RIBEIRO, L.R.; DICHI, J.B.; OLIVEIRA, R.J. - **Evaluation of *Agaricus blazei* in vivo for antigenotoxic, anticarcinogenic, phagocytic and immunomodulatory activities.** *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 59 (2011), 412-422.
14. FAN, L.; DING, S.; AI, L.; DENG, K. - **Antitumor and immunomodulatory activity of water-soluble polysaccharide from *Inonotus obliquus*.** *Carbohydrate Polymers*, 90 (2012) 870-874.
15. VANNUCCI, L.; KRIZAN, J.; SIMA, P.; STAKHEEV, D.; CAJA, F.; RAJSIGLOVA, L.; HORAK, V.; SAEH, M. - **Immunostimulatory properties and antitumor activities of glucans (Review).** *International journal of oncology*, 43 (2013) 357-364.
16. INA, K.; KATAOKA, T.; ANDO, T. - **The Use of Lentinan for Treating Gastric Cancer.** *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 13 (2013) 681-688.
17. WANG, K.; ZHANG, Q.; LIU, Y.; WANG, J.; CHENG, Y.; ZHANG, Y. - **Structure and Inducing Tumor Cell Apoptosis Activity of Polysaccharides Isolated from *Lentinus edodes*.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (2013) 9849-9858.
18. CUNHA, A.P.; TEIXEIRA, F.; SILVA, A.P.; ROQUE, O.R. - **Plantas na terapêutica - farmacologia e ensaios clínicos.** Lisboa : Fundação Calouste Gulbenkian, 2007. ISBN: 978-972-31-1224-5.
19. CUNHA, A.P.; SILVA, A.P.; ROQUE, O.R. - **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia.** 3ª Ed. Lisboa : Fundação Calouste Gulbenkian, 2009. ISBN: 978-972-31-1010-4.
20. YU, Z.; MING, G.; KAIPING, W.; ZHIXIANG, C.; LIQUAN, D.; JINGYU, L.; FANG, Z. - **Structure, chain conformation and antitumor activity of a novel polysaccharide from *Lentinus edodes*.** *Fitoterapia*, 81 (2010) 1163-1170.
21. **Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*)** - *Journal of the Society for Integrative Oncology*, 6 (2008) 134-135.

22. American Cancer Society. [Acedido em 27 de Fevereiro de 2014]. Disponível na Internet:<http://www.cancer.org/treatment/treatmentsandsideeffects/complementaryandalternativemedicine/dietandnutrition/shiitake-mushroom>.
23. ISRAILIDES, C.; KLETSAS, D.; ARAPOGLOU, D.; PHILIPPOUSSIS, A.; PRATSINIS, H.; EBRINGEROVA, A.; HRIBALOVA, V.; HARDING, S.E. - **In vitro cytostatic and immunomodulatory properties of the medicinal mushroom *Lentinula edodes***. *Phytomedicine*, 15 (2008) 512-519.
24. OKUNO, K.; UNO, K. - **Efficacy of Orally Administered *Lentinula edodes* Mycelia Extract for Advanced Gastrointestinal Cancer Patients Undergoing Cancer Chemotherapy: a Pilot Study**. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 12 (2011) 1671-1674.
25. SUZUKI, N.; TAKIMOTO, Y.; SUZUKI, R.; ARAI, T.; UEBABA, K.; NAKAI, M.; STRONG, J.M.; TOKUDA, H. - **Efficacy of Oral Administration of *Lentinula edodes* Mycelia Extract for Breast Cancer Patients Undergoing Postoperative Hormone Therapy**. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14 (2013) 3469-3472.
26. WHITE, R.W.; HACKMAN, R.M.; SOARES, S.E.; BECKETT, L.A.; SUN, B. - **Effects of a mushroom mycelium extract on the treatment of prostate cancer**. *Adult Urology*, 60 (2002) 640-644.
27. **Maitake**. *Journal of the Society for Integrative Oncology*, 7 (2009) 81-82.
28. American Cancer Society. [Acedido em 27 de Fevereiro de 2014]. Disponível na Internet:<http://www.cancer.org/treatment/treatmentsandsideeffects/complementaryandalternativemedicine/dietandnutrition/maitake-mushrooms>.
29. MAYELL, M. - **Maitake Extracts and Their Therapeutic Potential - A Review**. *Alternative Medicine Review*, 6 (2001) 48-60.
30. ULBRICHT, C.; WEISSNER, W.; BASCH, E.; GIESE, N.; HAMMERNESS, P.; SEAMON, E.; VARGHESE, M.; WOODS, J. - **Maitake Mushroom (*Grifola frondosa*): Systematic Review by the Natural Standard Research Collaboration**. *Journal of the Society for Integrative Oncology*, 7 (2009) 66-72.

31. SOARES, R.; MEIRELES, M.; ROCHA, A.; PIRRACO, A.; OBIOL, D.; ALONSO, E.; JOOS, G.; BALOGH, G. - **Maitake (D Fraction) Mushroom Extract Induces Apoptosis in Breast Cancer Cells by BAK-1 Gene Activation.** Journal of Medicinal Food, 14 (2011) 563-572.
32. CHAN, J.Y.; CHAN, E.; CHAN, S.; SZE, S.; CHAN, M; TSUI, S.; LEUNG, K.; CHAN, R.; CHUNG, I. - **Enhancement of in vitro and in vivo anticancer activities of polysaccharide peptide from *Grifola frondosa* by chemical modifications.** Pharmaceutical Biology, 49 (2011) 1114-1120.
33. MASUDA, Y.; INOUE, H.; OHTA, H.; MIYAKE, A.; KONISHI, M.; NANBA, H. - **Oral administration of soluble b-glucans extracted from *Grifola frondosa* induces systemic antitumor immune response and decreases immunosuppression in tumor-bearing mice.** International Journal of Cancer, 133 (2013) 108-120.
34. DENG, G.; LIN, H.; SEIDMAN, A.; FORNIER, M.; D'ANDREA, G.; WESA, K.; YEUNG, S.; CUNNINGHAM-RUNDLES, S.; VICKERS, A.J.; CASSILETH, B. - **A phase I/II trial of a polysaccharide extract from *Grifola frondosa* (Maitake mushroom) in breast cancer patients: immunological effects.** J Cancer Res Clin Oncol, 135 (2009) 1215-1221.
35. OIPM - Observatório de Interações Planta-Medicamento. [Acedido em 18 de Maio de 2014.] http://www.oipm.uc.pt/interacoes/index.php?target=list&search=plantas&start_at=10.
36. SHOMORI, K.; YAMAMOTO, M.; ARIFUKU, I.; TERAMACHI, K.; ITO, H. - **Antitumor effects of a water-soluble extract from Maitake (*Grifola frondosa*) on human gastric cancer cell lines.** Oncology Reports, 22 (2009) 615-620.
37. KODAMA, N.; MURATA, Y.; ASAKAWA, A.; INUI, A.; HAYASHI, M.; SAKAI, N.; NANBA, H. - **Maitake D-Fraction enhances antitumor effects and reduces immunosuppression by mitomycin-C in tumor-bearing mice.** Nutrition, 21 (2005) 624-629.
38. LIN, H.; STANCHINA, E.; ZHOU, X.; HONG, F.; SEIDMAN, A.; FORNIER, M.; XIAO, W.; KENNELLY, E.; WESA, K.; CASSILETH, B.; RUNDLES, S. - **Maitake beta-glucan promotes recovery of leukocytes and myeloid cell function in peripheral blood from paclitaxel hematotoxicity.** Cancer Immunol Immunother, 59 (2010) 885-897.

39. KODAMA, N.; KOMUTA, K.; NANBA, H. - **Can Maitake MD-Fraction Aid Cancer Patients?** *Alternative Medicine Review*, 7 (2002) 236-239.
40. CHU, K.; HO, S.S.; CHOW, A.H. - ***Coriolus versicolor*: A Medicinal Mushroom with Promising Immunotherapeutic Values.** *J Clin Pharmacol*, 42 (2002) 976-984.
41. CUI, J.; CHISTI, Y. - **Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production.** *biotechnology advances*, 21 (2003) 109-122.
42. SEKHON, B.K.; SZE, D.M.; CHAN, W.K.; FAN, K.; LI, G.Q.; MOORE, D.E.; ROUBIN, R.H. - **PSP activates monocytes in resting human peripheral blood mononuclear cells: Immunomodulatory implications for cancer treatment.** *Food Chemistry*, 138 (2013) 2201-2209.
43. American Cancer Society. [Acedido em 27 de Fevereiro de 2014]. Disponível na Internet:<http://www.cancer.org/treatment/treatmentsandsideeffects/complementaryandalternativemedicine/dietandnutrition/coriolus-versicolor>.
44. HO, C.; KIM, C.; LEUNG, K.; FUNG, K.; TSE, T.; CHAN, H.; LAU, C. - ***Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract attenuates growth of human leukemia xenografts and induces apoptosis through the mitochondrial pathway.** *Oncology Reports*, 16 (2006) 609-616.
45. WENNER, C.A.; MARTZEN, M.R.; LU, H.; VERNERIS, M.R.; WANG, H.; SLATON, J.W. - **Polysaccharide-K augments docetaxel-induced tumor suppression and antitumor immune response in an immunocompetent murine model of human prostate cancer.** *International Journal of Oncology*, 40 (2012) 905-913.
46. HO, C.C.; KIM, C.; LEUNG, K.; FUNG, K.; TSE, T.; CHAN, H.; LAU, C. - **Differential Anti-tumor Activity of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) Extract through p53- and/or Bcl-2-Dependent Apoptotic Pathway in Human Breast Cancer Cells.** *Cancer Biology & Therapy*, 4 (2005) 11-16.
47. TORKELSON, C.; SWEET, E.; MARTZEN, M.; SASAGAWA, M.; WENNER, C.; GAY, J.; PUTIRI, A.; STANDISH, L. - **Phase I Clinical Trial of *Trametes versicolor* in Women with Breast Cancer.** *International Scholarly Research Network*, (2012) 1-7.

48. ITO, G.; TANAKA, H.; OHIRA, M.; YOSHII, M.; MUGURUMA, K.; KUBO, N.; YASHIRO, M.; YAMADA, N.; MAEDA, K.; SAWADA, T.; HIRAKAWA, K. - **Correlation between efficacy of PSK postoperative adjuvant immunochemotherapy for gastric cancer and expression of MHC class I.** *Experimental and Therapeutic Medicine*, 3 (2012) 925-930.
49. **Coriolus versicolor no tratamento de lesões de HPV no colo do útero.** *Revista de Fitoterapia*. Outubro de 2009. Vol. 9.
50. TSANG, K.W.; LAM, C.L.; YAN, C.; MAK, J.C.; OOI, G.C.; HO, J.C.; LAM, B.; MAN, R.; SHAM, J.S.; LAM, W.K. - **Coriolus versicolor polysaccharide peptide slows progression of advanced non-small cell lung cancer.** *Respiratory Medicine*, 97 (2003) 618-624.
51. LUK, S.; LEE, T.K.; LIU, J.; LEE, D.T.; CHIU, Y.; MA, S.; NG, I.O.; WONG, Y.; CHAN, F.L.; LING, M. - **Chemopreventive Effect of PSP Through Targeting of Prostate Cancer Stem Cell-Like Population.** *plos one*, 6 (2011).
52. HO, J.C.; KONERDING, M.A.; GAUMANN, A.; GROTH, M.; LIU, W.K. - **Fungal polysaccharopeptide inhibits tumor angiogenesis and tumor growth in mice.** *Life Sciences*, 75 (2004)1343-1356.
53. XU, Z.; CHEN, X.; ZHONG, Z.; CHEN, L.; WANG, Y.- **Ganoderma lucidum Polysaccharides: Immunomodulation and Potential Anti-Tumor Activities.** *The American Journal of Chinese Medicine*, 39 (2011) 15-27.
54. TSAI, C.; YANG, F.; HUANG, Z.; CHEN, C.; YANG, Y.; HUA, K.; LI, J.; CHEN, S.; WU, S. - **Oligosaccharide and Peptidoglycan of Ganoderma lucidum Activate the Immune Response in Human Mononuclear Cells.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (2012) 2830-2837.
55. ARROYO, I.; ACEVEDO, R.; PEREZ, A.; CLEMENTE, P.L.; CUBANO, L.A.; SERRANO, J.; SCHNEIDER, R.J.; MONTEMAYOR, M. - **Anti-Tumor Effects of Ganoderma lucidum (Reishi) in Inflammatory Breast Cancer in In Vivo and In Vitro Models.** *Plos One*, 8 (2013) 1-12.

56. MONTEMAYOR, M.; ACEVEDO, R.; FRANQUI, E.; CUBANO, L.; DHARMAWARDHANE, S. - ***Ganoderma lucidum* (Reishi) Inhibits Cancer Cell Growth and Expression of Key Molecules in Inflammatory Breast Cancer.** Nutr Cancer, 63 (2011) 1085-1094.
57. CHEN, X.; HU, Z.P.; YANG, X.X.; HUANG, M.; GAO, Y.; TANG, W.; CHAN, S.Y.; DAI, X., YE, J.; HO, P.C.; DUAN, W.; YANG, H.Y.; ZHU, Y.Z.; ZHOU, S.F. - **Monitoring of immune responses to a herbal immuno-modulator in patients with advanced colorectal cancer.** International Immunopharmacology, 6 (2006) 499-508.
58. LIN, Z.; ZHANG, H. - **Anti-tumor and immunoregulatory activities of *Ganoderma lucidum* and its possible mechanisms.** Acta Pharmacologica Sinica, 25 (2004) 1387-1395.
59. MA, L.; CHEN, H.; DONG, P.; LU, X. - **Anti-inflammatory and anticancer activities of extracts and compounds from the mushroom *Inonotus obliquus*.** Food Chemistry, 139 (2013) 503-508.
60. KIMURA, Y.; KIDO, T.; TAKAKU, T.; SUMIYOSHI, M.; BABA, K. - **Isolation of an anti-angiogenic substance from *Agaricus blazei* Murill: Its antitumor and antimetastatic actions.** Cancer Sci, 95 (2004) 758-764.
61. KIM, C.; JIANG, J.; LEUNG, K.; FUNG, K.; LAU, C. - **Inhibitory effects of *Agaricus blazei* extracts on human myeloid leukemia cells.** Journal of Nutritional Biochemistry, 122 (2009) 753-764.
62. HETLAND, G.; JOHNSON, E.; LYBERG, T.; BERNARDSHAW, S.; TRYGGESTAD, A.; GRINDE, B. - **Effects of the Medicinal Mushroom *Agaricus blazei* Murill on Immunity, Infection and Cancer.** Scandinavian Journal of Immunology, 68 (2008) 363-370.
63. TAKAKU, T.; KIMURA, Y.; OKUDA, H.. - **Isolation of an Antitumor Compound from *Agaricus blazei* Murill and Its Mechanism of Action.** Biochemical and Molecular Action of Nutrients, (2001) 1409-1413.

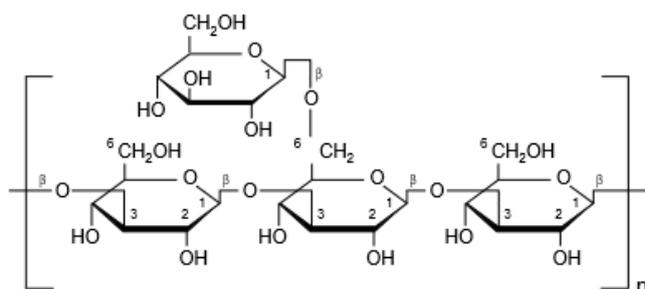
64. ZILLOTTO, L.; PINHEIRO, F.; BARBISAN, F.; RODRIGUES, M. - **Screening for In Vitro and In vivo Antitumor Activities of the mushroom *Agaricus blazei***. Nutrition and Cancer, 61 (2009) 245-250.
65. YU, C.; KAN, S.; SHU, C; LU, T.J.; SUN-HWANG, L.; WANG, P.S.- **Inhibitory mechanisms of *Agaricus blazei* Murill on the growth of prostate cancer in vitro and in vivo**. Journal of Ethnopharmacology, 20 (2009) 753-764.
66. LEE, Y.; KIM, H.; LEE, M.; KIM, J.; HAN, J.; HONG, E.; KWON, M.; LEE, M. - **Oral Administration of *Agaricus blazei* (HI Strain) Inhibited Tumor Growth in a Sarcoma I80 Inoculation Model**. Exp. Anim, 52 (2003) 371-375.
67. YOSHIMURA, K.; KAMOTO, T.; OGAWA, O.; MATSUI, S.; TSUCHIYA, N.; TADA, H.; MURATA, K.; YOSHIMURA, K.; HABUCHI, T.; FUKUSHIMA, M. - **Medical mushrooms used for biochemical failure after radical treatment for prostate cancer: An open-label study**. International Journal of Urology, 17 (2010) 548-554.
68. Medicamentos e Suplementos Alimentares: diferenças na avaliação e monitorização . Infarmed. [Acedido em 23 de Junho de 2014]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/TEMATICOS/BOLETIM_FARMACOVIGILANCIA/ANOS_ANTERIORES_2011/farmacovigilancia%201%BA%20trim12_port_1.pdf
69. **Comportamento do Consumidor Face aos Suplementos Alimentares**. Segurança e Qualidade Alimentar N° 6, Maio 2009, p. 12.

10 Anexos

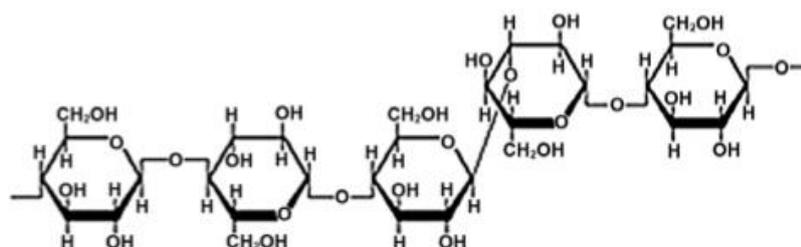


I – Cogumelos imunoestimulantes

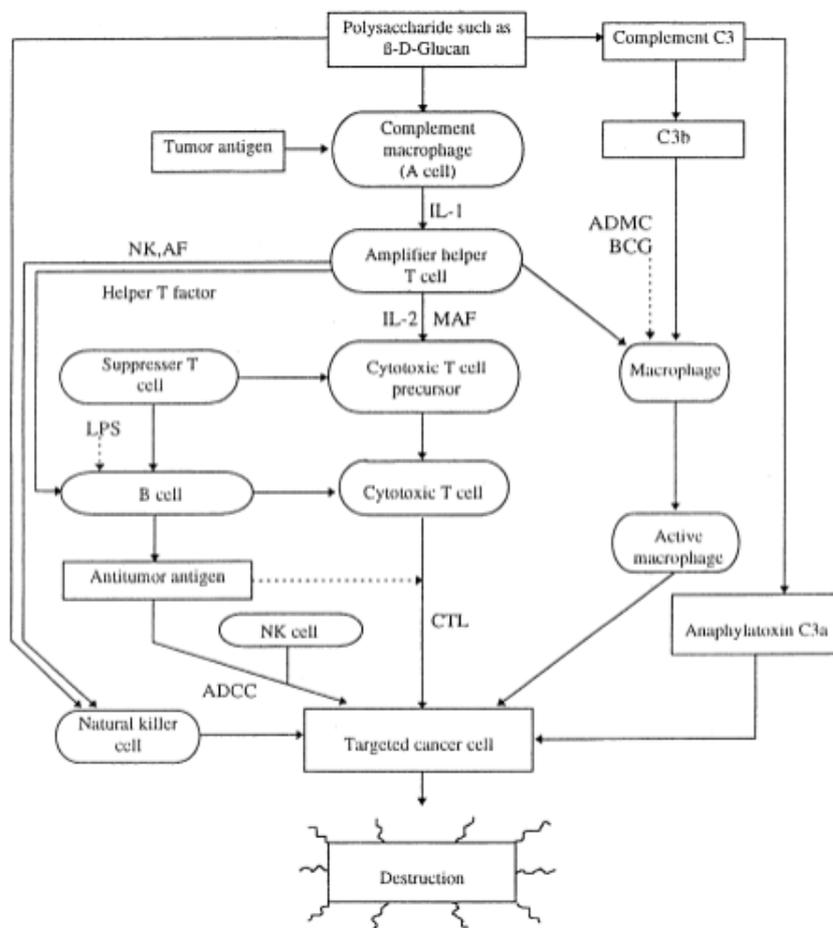
Adaptado de: www.medicalmushrooms.net/ [Acedido em 03 de Julho de 2014]



2 – Estrutura do β -D-glucano (3)



3 – Exemplo de (1 \rightarrow 3)- β -D-glucano (15)



4 – Possível mecanismo imunológico: β -D-glucano como modificador da resposta biológica (BRM) (1)