

Valutazione della sicurezza della biomassa di *Coriolus versicolor* come integratore nutrizionale

Ana B Barros,

Inst. of Hygiene and Tropical Medicine,
Nova University of Lisbon,
Rua da Junqueira 100, Lisboa
- anabdebarros@gmail.com

Professor Jorge Ferrão,

Ministry of Education,
Av. 24 de Julho, Maputo,
Mozambique

Professor Tito Fernandes,

ACIVET Faculty of Veterinary Medicine, Lisbon University, Portugal.
Alto da Ajuda, Rua Prof. Cid. dos Santos,
Lisboa, Portugal
- proccattifernandes@gmail.com

Sintesi

Premessa: Il *Coriolus versicolor* (CV) è un fungo di tipo comune con proprietà anti-infiammatorie, anti-ossidanti, anti-virali, anti-batteriche e immuno-modulanti. Tali caratteristiche sono state ampiamente provate attraverso l'utilizzo di estratti, mentre relativamente pochi sono gli studi che ne analizzano la biomassa.

Obiettivo della presente ricerca era investigare la sicurezza della biomassa poiché questa viene comunemente usata come integratore alimentare. La biomassa di CV in polvere è stata sciolta in acqua distillata e somministrata quotidianamente (2.5, 5.0 e 7.5 g/kg peso vivo) in singole dosi, mediante sonda, a ratti maschi e femmine.

Risultati: Non sono stati osservati effetti negativi e/o letali come conseguenza della somministrazione giornaliera di biomassa di CV. Non sono state inoltre osservate anomalie negli esami istopatologici e all'autopsia rispetto ai gruppi di controllo.

Conclusioni: Vista l'assenza di qualunque effetto negativo sui ratti, si può dedurre un profilo sicuro della biomassa del CV per il consumo umano.

Introduzione

Funghi quali il *Coriolus versicolor* (CV) aumentano l'attività delle cellule Linfociti B, delle cellule T e, specialmente, delle cellule Natural Killer (NK).

La biomassa contiene miceli e primordi ed è più resistente agli enzimi proteolitici (cioè alla simulazione del tratto digestivo)⁽¹²⁾ e incorpora anche attività enzimatiche che rafforzano il sistema immunitario, come le attività di superossido dismutasi, perossidasi, glucoamilasi, e di proteasi che non si individuano nella forma estratta. La biomassa dei funghi contiene non solo β -glucani (ad es. lentinano, schizofillano e grifola), presenti anche nella forma estratta, ma anche attività enzimatiche importanti che rafforzano il sistema immunitario (ad es. citocromo P-450, citocromo reduttasi, perossidasi, glucoamilasi, β -glucanasi, gluco 2-ossidasi, laccasi, superossido dismutasi e proteasi) e metaboliti secondari (ad es. terpeni, steroidi, antrachinoni, derivati di acido benzoico e chinoloni), non individuati in quantità significative nelle forme estratte dei funghi⁽¹⁴⁾.

Per questo le biomasse dei funghi devono essere considerate più efficaci ai fini della disintossicazione, della prevenzione dello stress ossidativo e della crescita cellulare. Scopo del presente studio è fornire una solida evidenza scientifica sulla valutazione della sicurezza della biomassa per quanto attiene ai dati utili per gli esseri umani, secondo le linee guida internazionali. A tal fine lo studio, conforme alle linee guida europee⁽²⁸⁻³¹⁾, è stato condotto su animali da laboratorio (ratti) usando diversi e sempre maggiori livelli di somministrazione di biomassa di CV, in dosi che hanno considerato il peso dell'animale e calcolate in base alle conoscenze già acquisite sulla somministrazione a esseri umani.

Materiali e Metodi

La biomassa di *Coriolus versicolor* (CV) usata nel presente studio è stata fornita dal Laboratorio di Ricerca Micologica Ltd. Sono stati adoperati ratti Wistar Han (RccHan: WIST) maschi e femmine, tenuti a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ sotto un ciclo di luce-buio di 12h e umidità del $70\% \pm 10\%$. Tutte le procedure di questo studio sono state condotte secondo le Direttive 2010/63/UE e la Regolamentazione Nazionale Portoghese (Decreto legge 113/2013, 7 Agosto 2013) e con l'approvazione (n° 08/2014) della Commissione Etica Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Lisbona.r

Valutazione di sicurezza

La biomassa di CV è stata dissolta in acqua distillata e somministrata quotidianamente (2.5g, 5.0g and 7.5 g/kg peso vivo/giorno) in singole dosi mediante sonda a ratti maschi e femmine (n = 60; 10 maschi e 10 femmine per trattamento) mentre il gruppo di controllo (n=10; 5 maschi e 5 femmine) hanno ricevuto lo stesso mangime senza aggiunta di CV. La dose di esposizione dei ratti è stata calcolata in modo da assicurare un fattore di sicurezza 100 corrispondenti a 2g/kg per un individuo umano di 60kg. Il comportamento generale del ratto è stato continuamente monitorato durante i 90 giorni (13 settimane) dell'esperimento, il loro peso corporeo misurato settimanalmente e l'assunzione alimentare regolata di conseguenza.

Risultati e Discussione

Principali scoperte e discussioni:

Durante i 90 giorni (13 settimane) dello studio non si sono osservati effetti letali come conseguenza della somministrazione quotidiana della biomassa di CV (2.5g/kg, 5.0g/ kg e 7.5g/kg peso vivo). L'aspetto e il comportamento degli animali sono stati i medesimi in tutti i gruppi durante i 90 giorni (un ratto maschio del gruppo di controllo è morto durante lo studio). Sono stati osservati normali aumenti di peso in ratti maschi e femmine di entrambi i gruppi e non si sono osservate differenze riguardanti il peso degli organi tra il gruppo testato e quello di controllo. La necropsia non ha rivelato anomalie.

Nonostante il *Coriolus versicolor* sia un prodotto medicinale comunemente usato in Cina e in Giappone⁽³⁶⁾, poche sono le informazioni sulla sicurezza tossicologica disponibili sia per la forma estratta sia per la biomassa. Sempre più evidenze fanno intuire che le forme estratte dei polisaccaropeptidi (PSP) non sono tossiche, anche se somministrate in dosi maggiori rispetto al dosaggio terapeuticamente efficace e per lunghi periodi. L'uso estensivo dei PSP, in quantità 100 volte superiori alla dose clinica usuale, non ha indotto nessuna tossicità cronica acuta negli animali e non è teratogena.⁽¹⁷⁾ I polisaccaropeptidi non sembrano nocivi se usati in gravidanza e non sono stati osservati effetti negativi sulle femmine in riproduzione né nello sviluppo dell'embrione dei ratti⁽³⁷⁾. Secondo la classificazione di Loomis e Hayes⁽³⁸⁾, le sostanze con LD50 compresi tra 5 and 15g/kg sono considerate in pratica atossici. In quanto tale, nel presente studio con i ratti, il NOAEL (dose senza effetto indesiderato osservabile) della biomassa di CV-OH1 era di 7.5 g/kg peso vivo e quindi la dose giornaliera accettabile, usando un fattore di sicurezza di 100, può essere stabilita in 4.5 g per un essere umano di circa 60 Kg. Solitamente, dopo esposizioni a sostanze potenzialmente tossiche, si osserva una lieve riduzione nell'incremento del peso corporeo e in quello degli organi interni. Ma nello studio della dose somministrata e ripetuta per 90 giorni non ci sono stati decessi né segni da porre in relazione al trattamento in entrambi i gruppi di animali. A tale dosaggio tutti i ratti hanno continuato ad aumentare di peso (come da grafico sottostante) dallo stadio giovanile a quello adulto⁽³⁹⁾. In verità il peso assoluto degli organi di entrambi i gruppi trattati, di entrambi i sessi, non sono risultati significativamente differenti da quello del gruppo di controllo (vedasi tabella 1). Questi dati suggeriscono la non tossicità della biomassa di CV-OH1.

Sebbene i presenti studi non fossero focalizzati a indagare la cancerogenicità, come descritto da OECD TG 451⁽³¹⁾, i dati qui ottenuti non hanno evidenziato alcuno sviluppo di lesioni neoplastiche, indicando perciò un effetto non potenzialmente carcinogeno. Diversi altri esperimenti con estratti di CV hanno mostrato che l'azione antitumorale è dovuta al miglioramento e al potenziamento dell'immunità cellulo-mediata attraverso la regolazione delle

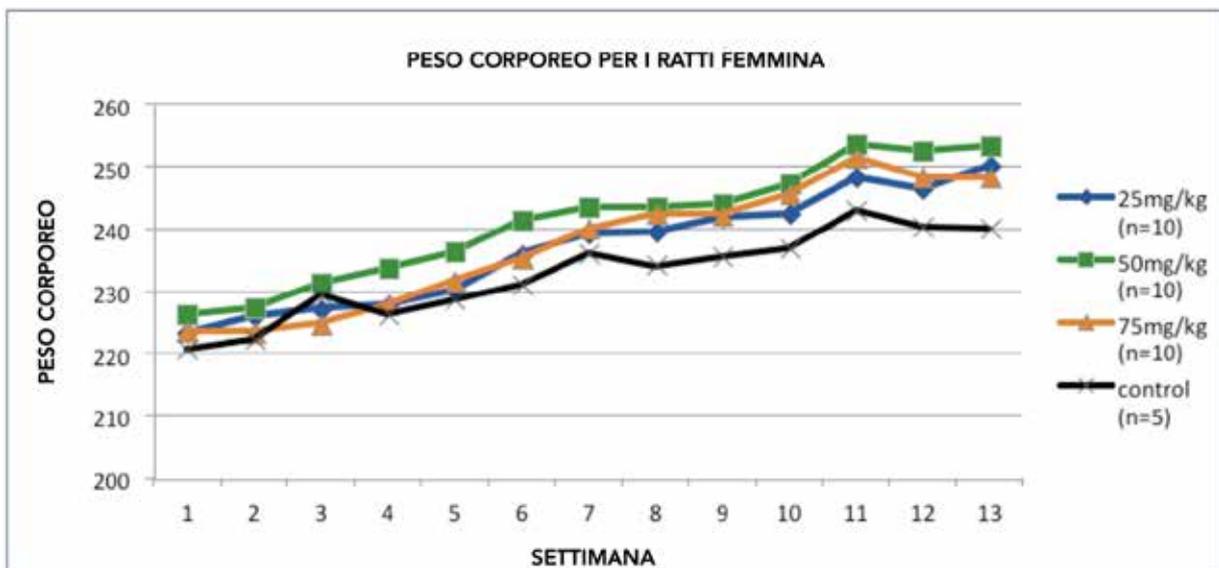
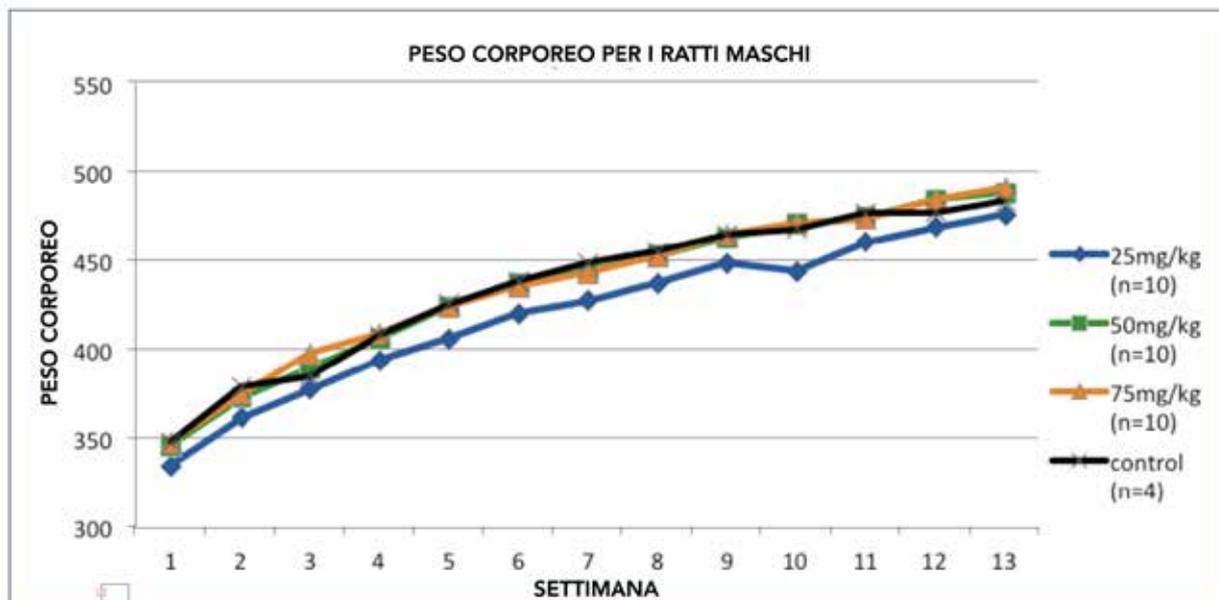
Valutazione della sicurezza della biomassa di *Coriolus versicolor* come integratore nutrizionale

citochine immunomodulatori e l'attivazione del sistema del complemento e delle cellule Natural Killers.^(24;40-42)

Conclusioni

E' stato condotto un controllo sulla sicurezza della sostanza usata come integratore alimentare nel test in ratti maschi e femmine con tre diversi livelli di somministrazione orale di biomassa di CV-OH1. Il livello di esposizione di ratti maschi e femmine di 7.5g/kg peso vivo per 90 giorni non ha mostrato effetti collaterali statisticamente o biologicamente rilevanti. I risultati dimostrano l'assenza nei ratti di effetti collaterali di rilievo della biomassa del *Coriolus versicolor* per il consumo umano.

Nota dell'editore: Il lavoro è stato originariamente pubblicato con il seguente riferimento:
Barros AB Ferrão, J and Fernandes T. (2016).
A safety assessment of Coriolus versicolor biomass as a food supplement.
Journal of Food and Nutrition Research 2016, Vol 60:29953: <http://dxdoi.org/10.3402/fnr.v60.29953>



Valutazione della sicurezza della biomassa di *Coriolus versicolor* come integratore nutrizionale

	Dose Somministrata							
	Controllo		Biomassa di <i>Coriolus versicolor</i>					
% Peso organo/peso corporeo			2.5g/kg		5.0g/kg		7.5g/kg	
	media	± SEM	media	± SEM	media	± SEM	media	± SEM
Maschi								
Vescica	0.066	0.0144	0.046	0.003	0.054	0.004	0.050	0.006
Cuore	0.257	0.0053	0.265	0.011	0.265	0.010	0.272	0.009
Reni	0.533	0.0300	0.531	0.009	0.539	0.015	0.553	0.012
Fegato	2.481	0.0232	2.751	0.081	2.488	0.134	2.805	0.093
Polmoni	0.314	0.0102	0.350	0.016	0.429	0.071	0.386	0.035
Milza	0.163	0.0122	0.160	0.007	0.184	0.011	0.170	0.006
Stomaco	0.423	0.0119	0.467	0.014	0.437	0.010	0.431	0.014
Femmine								
Vescica	0.069	0.003	0.068	0.003	0.071	0.006	0.081	0.006
Cuore	0.357	0.013	0.368	0.015	0.362	0.010	0.367	0.007
Reni	0.671	0.019	0.680	0.013	0.658	0.016	0.667	0.017
Fegato	2.990	0.043	2.965	0.088	3.111	0.079	3.025	0.078
Polmoni	0.559	0.048	0.499	0.012	0.505	0.027	0.485	0.015
Milza	0.283	0.012	0.275	0.010	0.257	0.011	0.251	0.009
Stomaco	0.666	0.029	0.666	0.026	0.637	0.017	0.673	0.027

Riferimenti

- (1) Elsayed EA, El EH, Wadaan MA, Aziz R. Mushrooms: a potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications. *Mediators Inflamm* 2014;2014:805841.
- (2) Tsukagoshi S, Hashimoto Y, Fujii G, Kobayashi H, Nomoto K, Orita K. Krestin (PSK). *Cancer Treat Rev* 1984 Jun;11(2):131-55.
- (3) Vieira V, Marques A, Barros L, Barreira J, Ferreira IC. Insights in the antioxidant synergistic effects of combined edible mushrooms: phenolic and polysaccharidic extracts of *Boletus edulis* and *Marasmius oreades*. *Journal of Food and Nutrition Research* 2012;51(2):119-6.
- (4) Kenyan J. Observational non-controlled Study of the Use of *Coriolus versicolor* supplementation in 30 Cancer Patients. *Mycology News* 1[7]. 2003.
- (5) Monro JA. Treatment of cancer with mushroom products. *Arch Environ Health* 2003 Aug;58(8):533-7.
- (6) Xu TT, Beelman RB, Lambert JD. The Cancer Preventive Effects of Edible Mushrooms. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 2012 Dec;12(10):1255-63.
- (7) Santoyo S, Ramiez-Anguiano AC, Aldars-Garcia L, Reglero G, Soler-Rivas C. Antiviral activities of *Boletus edulis*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes* extracts and polysaccharide fractions against Herpes simplex virus type 1. *Journal of Food and Nutrition Research* 2012;51(4):225-35.
- (8) Ghoneum M. Enhancement of human natural killer cell activity by modified

arabinoxylane from rice bran (MGN-3). *International Journal of Immunotherapy* 1998;14(2):89-99.

(9) Fritz H, Kennedy DA, Ishii M, Fergusson D, Fernandes R, Cooley K, et al. Polysaccharide K and *Coriolus versicolor* Extracts for Lung Cancer: A Systematic Review. *Integr Cancer Ther* 2015 Mar 17.

(10) Hor SY, Ahmad M, Farsi E, Lim CP, Asmawi MZ, Yam MF. Acute and subchronic oral toxicity of *Coriolus versicolor* standardized water extract in Sprague-Dawley rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2011 Oct 11;137(3):1067-76.

(11) Luo KW, Yue GGL, Ko CH, Lee JKM, Gao S, Li LF, et al. In vivo and in vitro anti-tumor and anti-metastasis effects of *Coriolus versicolor* aqueous extract on mouse mammary 4T1 carcinoma. *Phytomedicine* 2014 Jul;21(8-9):1078-87.

(12) Karmali A. Comparative Differences in β -1,3-1,6 Glucan content between *Ganoderma lucidum* (Reishi) mushrooms (Biomass vs Extracted) in the presence of proteolytic Enzymes. *Clinical Journal of Mycology* 2013;IV(January).

(13) Yangilar F. The application of dietary fibre in food industry: structural features, effects on health and definition, obtaining and analysis of dietary fibre: a review. *Journal of Food and Nutrition Research* 2013;1(3):13-23.

(14) Alves MJ, Ferreira IC, Dias J, Teixeira V, Martins A, Pintado M. A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds. *Planta Medica* 2012;78(16):1707-18.

(15) Valverde ME, Hernandez-Perez T, Paredes-Lopez O. Edible Mushrooms:

Valutazione della sicurezza della biomassa di *Coriolus versicolor* come integratore nutrizionale

Improving Human Health and Promoting Quality Life. International journal of microbiology 2015;2015.

(16) Chu KKW, Ho SSS, Chow AHL. *Coriolus versicolor*: A medicinal mushroom with promising immunotherapeutic values. Journal of Clinical Pharmacology 2002 Sep;42(9):976-84.

(17) Cui T, Chisti Y. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: physiological activity, uses, and production. Biotechnology Advances 2003 Apr;21(2):109-22.

(18) Fujita H, Ogawa K, Ikuzawa M, Muto S, Matsuki M, Nakajima S, et al. Effect of Psk, A Protein-Bound Polysaccharide from *Coriolus-Versicolor*, on Drug-Metabolizing-Enzymes in Sarcoma-180 Bearing and Normal Mice. International Journal of Immunopharmacology 1988;10(4):445-50.

(19) Han SN, Wu D, Leka LS, Meydani SN. Effect of mushroom (*Coriolus versicolor*) extract on the immune response of young and old mice. Faseb Journal 1996 Mar 8;10(3):3200.

(20) Kim BK, Park EK. Studies on the Constituents of the Higher Fungi of Korea .12. Anti-Neoplastic Components of *Coriolus versicolor* Fr, *Pleurotus-Ostreatus* (Fr) Kummer and *Lentinus-Edodes* (Berk) Singer. Journal of Natural Products 1979;42(6):684.

(21) Li XY, Wang JF, Zhu PP, Liu L, Ge JB, Yang SX. Immune Enhancement of A Polysaccharides Peptides Isolated from *Coriolus-Versicolor*. Acta Pharmacologica Sinica 1990 Nov;11(6):542-5.

(22) Mao XW, Gridley DS. Effects of extract of *Coriolus versicolor* and IL-2 against three tumor lines. Faseb Journal 1998 Mar 20;12(5):A889.

(23) Mayer P, Drews J. Effect of A Protein-Bound Polysaccharide from *Coriolus versicolor* on Immunological Parameters and Experimental Infections in Mice. Infection 1980;8(1):13-21.

(24) Ng TB. A review of research on the protein-bound polysaccharide (Polysaccharopeptide, PSP) from the mushroom *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes: Polyporaceae). General Pharmacology 1998 Jan;30(1):1-4.

(25) Ooi VE, Liu F. A review of pharmacological activities of mushroom polysaccharides. Int J Med Mushroom 1999;1:196-206.

(26) Yang QY, Jong SC, Li XY, Zhou JX, Chen RT, Xu LZ. Antitumor and Immunomodulating Activities of the Polysaccharide-Peptide (Psp) of *Coriolus-Versicolor*. Eos-Rivista di Immunologia Ed Immunofarmacologia 1992;12(1):29-34.

(27) Arteiro JMS, Martins MR, Salvador C, Candeias MF, Karmali A, Caldeira AT. Protein-polysaccharides of *Trametes versicolor*: production and biological activities. Medicinal Chemistry Research 2012 Jun;21(6):937-43.

(28) EC (European Commission). On nutrition and health claims made on foods. Official Journal of the European Communities 2006;Regulation (EC) No 1924/2006:L12-3.

(29) EC (European Commission). Approximation of the laws of the Member States relating to food supplements. Official Journal of the European Communities 2006;Directive 2002/46/EC :L94-1.4.2006.

(30) FAO/WHO. Codex Alimentarius Commission. 2004. Rome.

(31) OECD. Test No. 452: Chronic Toxicity Studies. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 2009.

(32) Nesheim M, Dickinson A, Kumanyika SK, Farnsworth NR, McCaleb RS, Gilhooley M, et al. Dietary Supplement Health and Education Act of 1994. USA: Commission on Dietary Supplement Labels; 1997. Report No.: Act S784: 1994.

(33) El Sohaimy SA. Functional foods and nutraceuticals-modern approach to

food science. World Applied Sciences Journal 2012;20(5):691-708.

(34) EC (European Commission). Proposal for a regulation of the European Parliament and of the Council on nutrition and health claims made on foods. Official Journal of the European Communities 2003;49(L404).

(35) WHO. Nutrient profiling. WHO; 2011. Report No.: Report of a WHO/IASO technical meeting.

(36) Xu LZ. The antitumor and anti-virus activity of polysaccharopeptide(PSP). In: Yang QY, editor. Advanced research in PSP . Hong Kong Association of Healthcare ed. Hong Kong: Hong Kong Association of Healthcare; 1999.

(37) Ng TB, Chan WY. Polysaccharopeptide from the mushroom *Coriolus versicolor* possesses analgesic activity but does not produce adverse effects on female reproductive or embryonic development in mice. General Pharmacology 1997 Aug;29(2):269-73.

(38) Loomis T, Hayes A. Loomis's Essentials of Toxicology. Academic Press; 1996.

(39) Teo S, Stirling D, Thomas S, Hoberman A, Kiorpes A, Khetani V. A 90-day oral gavage toxicity study of D-methylphenidate and D,L-methylphenidate in Sprague-Dawley rats. Toxicology 2002 Oct 15;179(3):183-96.

(40) Cheng K-F, Leung P-C. General review of polysaccharopeptides (PSP) from *C. versicolor*: Pharmacological and clinical studies. Cancer Therapy 2008;6:117-30.

(41) Kidd PM. The use of mushroom glucans and proteoglycans in cancer treatment. Alternative Medicine Review 2000;5(1):4-27.

(42) Ohwada S, Ogawa T, Makita F, Tanahashi Y, Ohya T, Tomizawa N, et al. Beneficial effects of protein-bound polysaccharide K plus tegafur/uracil in patients with stage II or III colorectal cancer: analysis of immunological parameters. Oncol Rep 2006 Apr;15(4):861-8.

(43) Evans GO. General Introduction. In: Evans GO, editor. Animal Clinical Chemistry: A Practical Handbook for Toxicologists and Biomedical Researchers. 2nd ed. CRC Press ; 2009.