

Una evaluación de la seguridad de la biomasa de *Coriolus versicolor* como Suplemento Alimentario

Ana B Barros, Salud General & Medicina Tropical, Instituto de Higiene y Medicina Tropical, Universidad Nueva de Lisboa, Calle de la Junqueira 100, Lisboa - anabdebarros@gmail.com

Profesor Jorge Ferrão, Ministro de Educación, Av., 24 de Julho, Maputo, Mozambique

Profesor Tito Fernandes, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Lisboa, Portugal. Alto da Ajuda, Rua Prof. Cid. dos Santos, Lisboa, Portugal - procattitofernandes@gmail.com

Resumen

Antecedentes: *Coriolus versicolor* (CV) es un hongo común con propiedades antitumorales, antiinflamatorias, antioxidantes, antivirales, antibacterianas e inmunomoduladoras. Todo esto ha sido ampliamente demostrado empleando extracto de CV, si bien la investigación empleando biomasa es más bien escasa.

Objetivo: el objeto de este estudio era investigar la seguridad de la forma de biomasa de CV tal como se suele emplear como complemento alimentario. **Diseño:** El polvo de biomasa de CV se disolvió en agua destilada y se administró en una pauta diaria (2.5, 5.0 e 7.5 g/kg peso vivo) en dosis únicas en alimentación forzosa tanto a ratas hembras como machos.

Resultados: No se observaron efectos adversos o letales como consecuencia de la administración diaria de biomasa de CV. Así mismo, en comparación con el grupo control, no se observaron hallazgos en la autopsia ni en el examen histopatológico.

Conclusiones: El perfil seguro de la biomasa de CV para el consumo humano, puede deducirse de la ausencia de cualquier efecto destacable en ratas.

Introducción

Los hongos tales como *Coriolus versicolor* (CV) aumentan la actividad de células tales como los linfocitos B, linfocitos T y de modo especial de las células NK (asesinos naturales). La biomasa de CV contiene micelio y primordio y es más resistente a las enzimas proteolíticas (es decir, simulación de tracto digestivo) que la forma de extracto⁽¹²⁾. La forma de biomasa también incorpora una importante actividad enzimática inmunoestimulante, tal como la que proviene de la actividad de superóxido dismutasa, de peroxidasa, de glucoamilasa y de proteasa, que no se detectan en las formas de extractos de hongos. La forma de biomasa no solo aporta β -glucanos (por ej., lentinan, esquizofilano y grifolano), que también son aportados por la forma de extracto, sino la importante actividad enzimática inmunoestimulante (por ej., citocromo P-450, citocromo reductasa, peroxidasa, glucoamilasa, β -glucanasa, glucosa 2-oxidasa, laccasa, superóxido dismutasa and proteasa) y metabolitos secundarios (por ej., terpenos, esteroides, antraquinonas, derivados del ácido benzoico and quinolonas) que no se detectan en cantidades significativas en las formas extractadas de los hongos⁽¹⁴⁾. Por lo tanto, las formas de biomasa de los hongos se consideran más beneficiosas para promover detoxificación y prevenir el estrés oxidativo y el crecimiento celular⁽¹⁵⁾. El propósito de este estudio ha sido obtener evidencia científica sólida sobre la valoración de la seguridad de la biomasa de CV con respecto a la extrapolación de datos a humanos, de acuerdo con las directrices internacionales. Con este fin, se dirigió el presente estudio en animales de laboratorio (ratas) utilizando niveles de inclusión diferentes y progresivamente en aumento de biomasa de CV, con dosis relacionadas con el peso del animal y calculadas según el conocimiento previo de su administración en humano. El estudio cumple las directrices europeas⁽²⁸⁻³¹⁾

Materiales y Métodos

La biomasa de *Coriolus versicolor* (CV) para el presente estudio se adquirió a Mycology Research Laboratories Ltd. En el presente estudio

se emplearon ratas Han Wistar (RccHan: WIST) machos y hembras. Las ratas se mantuvieron a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ bajo ciclos de día/noche de 12h y humedad relativa del $70\% \pm 10\%$. Todos los procedimientos del estudio se realizaron de acuerdo con la directiva 2010/63/UE y la Regulación Nacional Portuguesa (Decreto ley 113/2013, 7 Agosto 2013) y con la aprobación (nº 08/2014) del Comité de Ética Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Lisboa.

Evaluación de seguridad

El polvo de biomasa de CV se disolvió en agua destilada y se administró en una pauta diaria (2.5g, 5.0g y 7.5 g/kg de peso vivo) en dosis únicas en alimentación forzosa tanto a ratas hembras como machos ($n = 60$; 10 machos y 10 hembras por tratamiento), mientras que el grupo control ($n=10$; 5 machos y 5 hembras) recibió solo la misma alimentación, pero sin la adición de CV. La dosis de exposición para la rata fue calculada para asegurar un factor de seguridad de 100 correspondiendo a 2g/kg para un individuo adulto de 60kg. El comportamiento general de la rata se monitorizó continuamente durante los 90 días (13 semanas) que duró el experimento y se midió semanalmente el peso corporal y se ajustó la ingesta.

Resultados y Discusión

Principales hallazgos y discusión: Durante los 90 días (13 semanas) del estudio no se observaron efectos letales como consecuencia de la administración diaria de biomasa de CV (2.5g/kg, 5.0g/kg y 7.5g/kg de peso vivo). El comportamiento y la apariencia de los animales fue similar en todos los grupos durante los 90 días (una rata macho del grupo de control murió durante el estudio experimental). Se observaron aumentos normales del peso corporal en los machos y en las hembras de todos los grupos y no hubo diferencias significativas entre los pesos relativos de los órganos de los grupos testados comparados con los grupos control. No se observaron hallazgos anómalos en las autopsias.

Aunque *Coriolus versicolor* sea uno de los productos medicinales más frecuentemente usados en Japón y en China⁽³⁶⁾, existe escasa información disponible referente a su seguridad en las formas de extracto o de biomasa. La evidencia acumulada sugiere que los polisacaridopéptidos (PSP) de las formas extractadas son inocuos incluso cuando se administran a dosis que supera varias veces la dosis terapéutica eficaz y durante periodos prolongados. El uso extendido de los PSP a dosis 100 veces mayor de la dosis clínica normal no ha provocado toxicidad aguda ni crónica en animales y no es teratogénico⁽¹⁷⁾. Los polisacaridopéptidos parecen ser seguros durante el embarazo y no se han observado efectos adversos de los PSP en la función reproductora femenina ni en el desarrollo embrionario de ratones⁽³⁷⁾. De acuerdo con la clasificación de Loomis y Hayes⁽³⁸⁾, las sustancias con una LD50 entre 5 y 15g/kg se consideran como prácticamente atóxicas. Por ello, en el presente estudio, el NOAEL (nivel al que no se observan efectos adversos, (por sus siglas en inglés)) de la biomasa CV-OH1 fue de 7.5 g/kg de peso vivo y por lo tanto la Ingesta Diaria Aceptable de biomasa de CV-OH1, empleando el factor de seguridad de 100 puede establecerse en 4.5 g para un humano de 60kg. Tras cierta exposición a sustancias potencialmente tóxicas, normalmente podría haber una

Una evaluación de la seguridad de la biomasa de *Coriolus versicolor* como Suplemento Alimentario continuación...

ligera reducción del aumento de peso corporal y de los pesos de los órganos internos. Sin embargo, en las dosis repetidas en el estudio oral de 90 días, no se observaron muertes ni signos relacionados con el tratamiento en ningún animal de ningún grupo. Todas las ratas de cada grupo de dosis continuaron ganando peso durante el estudio de 90 días (ver gráficos abajo), desde la fase juvenil a la fase adulta⁽³⁹⁾. De hecho, en el presente estudio, los pesos absolutos de los órganos de los grupos tratados de ambos sexos no eran significativamente diferentes de los pesos de grupo control (ver tabla 1 más abajo). Este hecho sugiere que no hay efecto tóxico serio derivado de la biomasa CV-OH1.

Aunque el presente ensayo no tenía como objetivo estudios de potencial carcinogénico, como se describe en OECD TG 451⁽³¹⁾, los datos que se obtuvieron muestran que no se desarrollaron lesiones neoplásicas lo cual es indicativo de la ausencia de efecto carcinogénico. Otros diversos estudios que tratan sobre CV mostraron que la acción antitumoral es debida al aumento y potenciación del sistema inmune mediado por células mediante la regulación de citocinas inmunomoduladoras y la activación del sistema de complemento

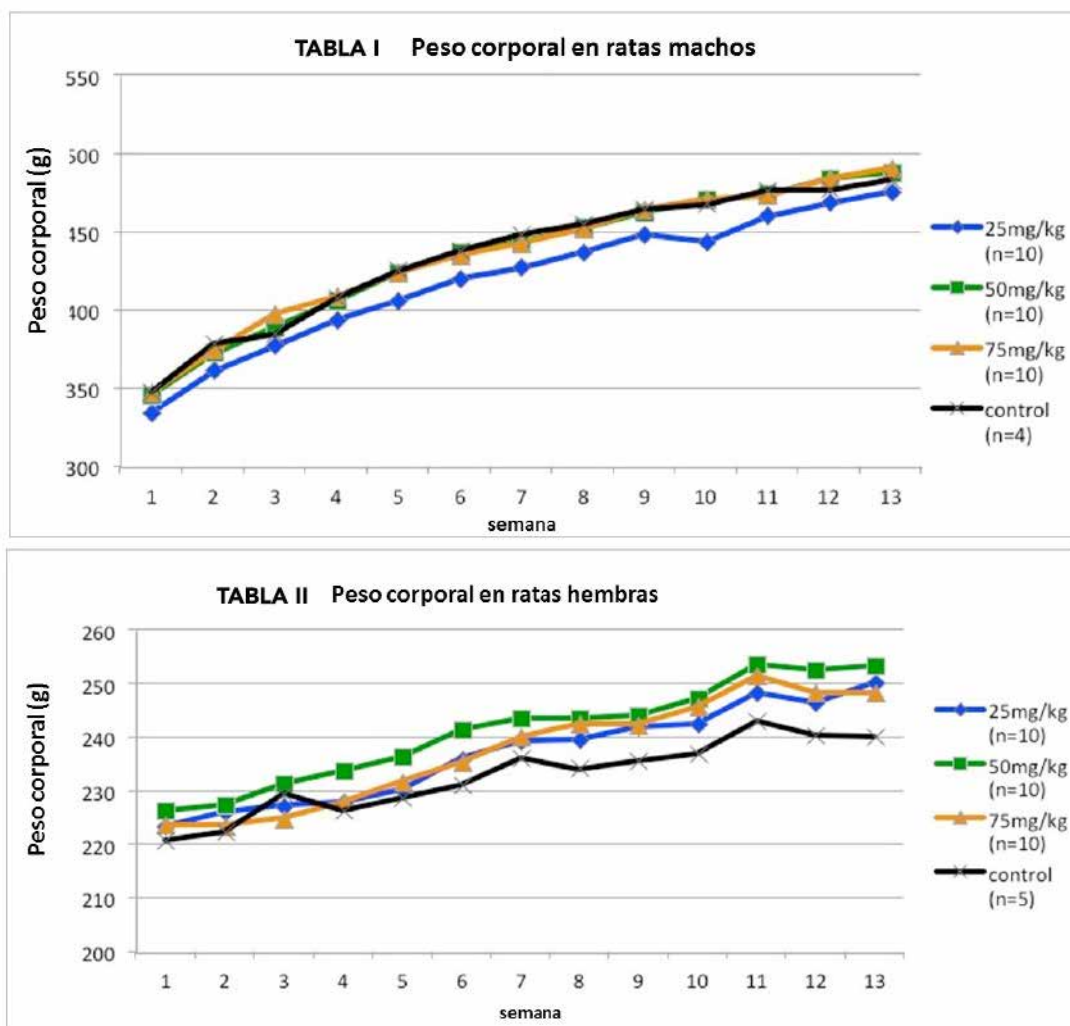
y de las células NK (Natural Killers, asesinas naturales).^(24,40-42)

Conclusión

Se condujo una evaluación de seguridad de la sustancia testada como suplemento alimentario en ratas machos y hembras en 3 niveles diferentes de inclusión oral de la biomasa de CV-OH1. El nivel de exposición de 7.5g/kg de peso vivo durante 90 días tanto para las ratas machos como para las hembras no mostró efectos adversos ni biológicamente ni estadísticamente significativos. Los resultados mostraron que el perfil de seguridad de la biomasa de *Coriolus versicolor* para el consumo humano se infiere de la ausencia de cualquier efecto adverso destacable en ratas.

Nota del editor: El artículo se publicó originalmente con la siguiente referencia: 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>



Una evaluación de la seguridad de la biomasa de *Coriolus versicolor* como Suplemento Alimentario *continuación...*

TABLA III	Dosis administrada							
	Control		Biomasa de <i>Coriolus versicolor</i>					
% Peso de órgano/peso corporal			2.5g/kg		5.0g/kg		7.5g/kg	
	media	± SEM	mean	± SEM	mean	± SEM	mean	± SEM
Macho								
Vejiga	0.066	0.0144	0.046	0.003	0.054	0.004	0.050	0.006
Corazón	0.257	0.0053	0.265	0.011	0.265	0.010	0.272	0.009
Riñones	0.533	0.0300	0.531	0.009	0.539	0.015	0.553	0.012
Hígado	2.481	0.0232	2.751	0.081	2.488	0.134	2.805	0.093
Pulmones	0.314	0.0102	0.350	0.016	0.429	0.071	0.386	0.035
Bazo	0.163	0.0122	0.160	0.007	0.184	0.011	0.170	0.006
Estómago	0.423	0.0119	0.467	0.014	0.437	0.010	0.431	0.014
Hembra								
Vejija	0.069	0.003	0.068	0.003	0.071	0.006	0.081	0.006
Corazón	0.357	0.013	0.368	0.015	0.362	0.010	0.367	0.007
Riñones	0.671	0.019	0.680	0.013	0.658	0.016	0.667	0.017
Hígado	2.990	0.043	2.965	0.088	3.111	0.079	3.025	0.078
Pulmones	0.559	0.048	0.499	0.012	0.505	0.027	0.485	0.015
Bazo	0.283	0.012	0.275	0.010	0.257	0.011	0.251	0.009
Estómago	0.666	0.029	0.666	0.026	0.637	0.017	0.673	0.027

Referencias

- (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:

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.