

# Rivista Clinica di Micologia

Settembre 2012 Volume 3

**La Rivista Clinica di Micologia è impegnata nella diffusione delle informazioni sull'impiego clinico della nutrizione con funghi tra i professionisti della cura della salute.**

— Pagina 2

***Coriolus versicolor* – Valutazione degli effetti nei pazienti colpiti da Papilloma virus umano (HPV), sottotipi di Alto rischio e Basso rischio.**

Dr. Stoyan Borisov

— Pagina 4

**Sviluppo della ricerca: Il ruolo dei prodotti della biomassa fungina MRL come modulatori delle vie della risposta immune mediate dai recettori di tipo Toll.**

Chris J. Newton PhD. Laboratori di ricerca citogenetica Cytogenex Research Ltd

— Pagina 5

**Sintesi della Ricerca di CytoGenex in collaborazione con l'Istituto Max-Planck di Monaco di Baviera (Germania) sull'Attivazione Batterica dei Recettori Immunologici nelle Cellule Cancerogene.**

Chris J. Newton PhD. Laboratori di ricerca citogenetica Cytogenex Research Ltd

— Pagina 6

**Detossificazione – Il ruolo della Nutrizione con Funghi**

Professor Amin Karmali

— Pagina 8

**Valutazione dell'efficacia del *Coriolus versicolor* nel Trattamento delle Lesioni da HPV (LSIL)**

Programma presentato durante il 14° Congresso Mondiale di Patologia Cervicale e Colposcopia – IFCPC; 4 - 7 luglio 2011, Rio de Janeiro, Brasile, Dott. Jose Silvia Couto

£7.00 \$14.00 €10.50

# Coriolus versicolor – Valutazione degli effetti sui pazienti infettati con sottotipi di HPV ad alto/basso rischio.



Dr. Stoyan Borisov

## Dr. Stoyan Borisov

Ospedale universitario di Ostetricia e Ginecologia "Maichin dom" Sofia, 2, Via Zdrave, Sofia, Bulgaria. E-mail: sborissov@mail.bg

### RIASSUNTO

Il Coriolus-MRL è un nutriente adiuvante con proprietà immunostimolanti. Studi statistici effettuati in Bulgaria hanno dimostrato come la supplementazione con Coriolus può avere effetti benefici nell'eliminazione di molti sottotipi di Virus HPV.

### INTRODUZIONE

Il *Coriolus versicolor* è un fungo la cui biomassa agisce come un immunomodulatore non specifico. Il Coriolus MRL è un nutriente adiuvante adatto a pazienti con immunodeficienza a seguito di malattia o intervento chirurgico, tanto nella prevenzione delle virosi cancro-inducibili quanto nei pazienti oncologici come rafforzamento del sistema immunitario, specialmente dopo chemio e radioterapia.

L'effetto immunostimolante di Coriolus-MRL è dovuto al contenuto di betaglucani;

– polisaccaride K (PSK) e polisaccaridopeptide (PSP) – che stimolano gli effetti delle cellule Natural Killer e incrementano il numero di linfociti-T. L'attività enzimatica previene lo stress ossidativo dovuto alla presenza di Coriolus 10 Kd peptide il quale agisce in maniera analoga all'enzima superossido-dismutasi (SOD). L'attività proteasica inibisce la proliferazione delle cellule tumorali ed il ruolo del citocromo P-450 è in relazione alla detossificazione dell'organismo. L'effetto immunostimolante è rafforzato dal contenuto di alcuni metaboliti secondari (lectine, terpenoidi, chelati) che hanno anche effetti fibrinolitici.

L'infezione da papilloma virus umano (HPV) è la più comune infezione sessualmente trasmessa con effetti su circa il 70% della popolazione in età riproduttiva. Nel corso dello scorso anno si è stabilito che il *Coriolus versicolor* ha un effetto positivo nella prevenzione dello sviluppo del cancro alla cervice uterina in pazienti con HPV. L'infezione da papilloma virus umano (HPV) è la più comune infezione sessualmente trasmessa con effetti su circa il 70% della popolazione in età riproduttiva. Si è stabilito durante l'anno passato che il *Coriolus versicolor* ha un effetto positivo nella prevenzione dello sviluppo del cancro alla cervice uterina in pazienti con HPV.<sup>(3)</sup>

### MATERIALI E METODI

Tra il 2009 e il 2010 venne effettuato uno studio statistico in Bulgaria sulla valutazione nell'integrazione di *Coriolus versicolor* in 100 pazienti (età 16-50) con alta positività per alto e basso rischio di sottotipi HPV. Il trattamento conservativo fu applicato a 73 pazienti (Coriolus MRL 2x3 compresse per un periodo di 6 mesi) ed il resto dei pazienti (27) furono oggetto di un trattamento combinato (intervento chirurgico + Coriolus MRL 2x3 compresse). Lo status dei pazienti fu determinato da esami citologici cervicali e da tipizzazione HPV. La Colposcopia fu eseguita in 53 pazienti mentre il 51% di loro furono sottoposti a biopsia.

### RISULTATI

I risultati hanno dimostrato come a seguito del trattamento combinato tutti i pazienti dei gruppi PAP IIIa e IIIb sono ritornati al gruppo I e/o al gruppo II. L'infezione persistente è stata accertata nel gruppo di pazienti III d (tab1). I risultati dimostrano che 64 (88%) dei 73 pazienti nel protocollo di trattamento conservativo sono diventati HPV-negativi.

### CONCLUSIONI

L'integrazione con Coriolus MRL ha incrementato naturalmente il sistema immunitario del paziente determinando l'eliminazione virale. Gli effetti benefici dell'integrazione contro questi sottotipi di HPV rappresenta un passo importante in un moderno trattamento antivirale (combinato e conservativo al tempo stesso)\*

**Tabella 1.** Risultati di uno studio di 6 mesi: numero di pazienti e PAP-test nei rispettivi gruppi. Quattro dei cento pazienti testati risultavano positivi ai sottotipi HPV di basso rischio, mentre 96 erano positivi al sottotipo HPV di alto rischio. Al termine dello studio di 6 mesi solo 11 pazienti presentavano ancora risultati positivi a uno o più sottotipi di HPV (**Tabella**).

Mese 1		Mese 6		
		PAP 1	PAP II	PAP III a
47	PAP 1 / PAP II	47		-
29	PAP III a	9	20	-
9	PAP III b	3	6	-
15	PAP III d	6	6	3

**Tabella 2.** Risultati di uno studio della durata di 6 mesi: pazienti portatori di sottotipi di HPV di alto rischio e basso rischio

	Mese 1	Mese 6	
		Negativo	Positivo
Sottotipi HPV di basso rischio	4	4	-
Sottotipi HPV di alto rischio	96	85	11

**Tabella 3.** Evidenza come 8 degli 11 pazienti risultavano negativi rispetto a diversi sottotipi di HPV stabilito all'inizio dello studio. Due pazienti hanno mostrato sottotipi HPV nuovi e sono risultati negativi rispetto ai sottotipi stabiliti inizialmente

Mese 1	Mese 6
HPV 56; 59	HPV 59
HPV 56	HPV 52
HPV 31; 33; 35; 39; 59	HPV 35
HPV 16; 35; 56	HPV 16; 56
HPV 16;31;58	HPV 16; 31
HPV 16; 18	HPV 16
HPV 6; 11; 16; 18	HPV 16; 18
HPV 16; 31; 58	HPV 16; 31
HPV 56	HPV 56
HPV 6; 59	HPV 6
HPV 35; 56; 58	HPV 39; 45

**Referenza:**

- Chu K., Ho S., Chow A.** (2002). *Coriolus versicolor*: a medicinal mushroom with promising immunotherapeutic values. *Journal of Clinical Pharmacology*, 42: 976-984.
- Jimenes Medina E., Berruguilla E., Romero I., Algarra I., Collado A., Garrido F., Garcia-Lora A.** (2008). The immunomodulator PSK induces in vitro cytotoxic activity in tumor cell lines via arrest of cell cycle and induction of apoptosis. *BMC Cancer*. 24: 8:78.
- Monro J.** (2005). Cytokine Th1 to Th2 Shift can be Reversed by Coriolus. Prospective Trial for HPV Control with Coriolus. *Clinical Journal of Mycology*, Vol. 1, Ed. 10: 4.
- Couto S.** (2007). Evaluation of *Coriolus versicolor* Supplementation in HPV Patients. *Clinical Journal of Mycology*, Vol. 2, Ed. 1:2-5.

**Additional References (Medline):**

- Akush Ginekol (Sofia).** 2008;47 Suppl 3:51-3. [Coriolus versicolor--innovation in prevention of oncogynecological diseases, especially HPV]. [Article in Bulgarian] Bogdanova J.
- Abstract:** Coriolus-MRL is a nutrient adjuvant, which contains biomass of the fungus *Coriolus versicolor* and is studied to reverse early stages of cervical cancer and to reduce risk factors of reoccurring HPV virus. PMID:19449722 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Akush Ginekol (Sofia).** 2009; 48 Suppl 2:31.[Coriolus-MRL-a new addition to the arsenal for complex treatment of oncogynecological diseases]. [Article in Bulgarian] Borisov S. PMID: 20380095 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Akush Ginekol (Sofia).** 2009; 48 Suppl 1:18. [Coriolus-MRL-a new addition to the arsenal for complex treatment of oncogynecological diseases]. [Article in Bulgarian] Trifonov G. PMID: 20383927 [PubMed - indexed for MEDLINE]

**Clinical Journal of Mycology is published by Aneid Press, a division of Aneid Lda.**

**Editor:** Professor Tito Fernandes PhD, DSc, Dr HC mult, Dip ECVCN, AAVN **email:** profcattitofernandes@gmail.com

**Editorial Advisor:** Christopher Hobbs, B.A., A.H.G., L.Ac (USA), Ph.D candidate **email:** ch@christopherhobbs.com

**Design & Production:** Allan Parker **email:** pureland@dircon.co.uk

\* Il *Coriolus versicolor* utilizzato è stato somministrato dai Laboratori di ricerca citogenetica Mycology Research Laboratories Ltd. [www.mycologyresearch.com](http://www.mycologyresearch.com)

# Sviluppo della ricerca: Il ruolo dei prodotti della biomassa fungina MRL come modulatori delle vie della risposta immune mediate dai recettori di tipo Toll



Chris J. Newton PhD.

## Chris J. Newton PhD.

Laboratori di ricerca citogenetica 'CytoGenex Research Ltd', Indirizzo: The Jacob's Wall Yard, Swinemoor Lane, Beverley, East Yorkshire, HU17 0BX  
E-mail: cjnewton@cyto-genex.com

## PREMESSA

E' largamente riconosciuto che l'infiammazione gioca un ruolo nei processi di malattia e sotto diversi aspetti anche per il cancro. Una condizione infiammatoria è molto spesso provocata da fattori ambientali come microrganismi patogeni, componenti alimentari e inquinamento. Inerente al processo infiammatorio è l'attivazione del sistema immunitario. Il sistema immunitario è composto da due fondamentali elementi; la produzione di anticorpi immunoglobuline da parte dei linfociti-B e l'attività di cellule come i Macrofagi e le Natural Killer (immunità cellulo-mediata o innata). Quando un agente patogeno è individuato, il sistema immunitario cellulo-mediato è pronto e può essere rinforzato dalla produzione di anticorpi da parte dei Linfociti B.

Quando un individuo è nuovamente esposto, l'esposizione primaria a patogeni o a sostanze estranee può portare a reazioni di ipersensibilità. Ciò si verifica in alcuni soggetti, ma anche a causa di meccanismi non ancora chiaramente identificati. Questo tipo di sensibilità, chiamata ipersensibilità di tipo IV, coinvolge i linfociti-T che hanno memoria di una precedente esposizione all'agente. L'ipersensibilità di tipo IV può portare ad una reazione allergica a componenti alimentari, microrganismi, metalli pesanti ed altri inquinanti ambientali.

Il Test di Trasformazione Linfocitaria (LTT) può essere impiegato per valutare l'eventuale sensibilità di un soggetto ad un fattore ambientale. Questo metodo sfrutta un processo di centrifuga speciale per separare le cellule immunitarie dal sangue totale. Una frazione cellulare arricchita da linfociti-T è poi esposta ad una sostanza potenzialmente stimolante, le cellule-T, e dopo diversi giorni in coltura, il numero di cellule-T è determinato da un processo di conta quantitativa e dall'osservazione visiva di cellule al microscopio. L'incremento del numero di cellule-T è registrato come indice di stimolazione (SI). Risposte positive sono normalmente considerate con SI uguale a 3 o superiore, dove il numero di linfociti-T è tre volte maggiore di quello del controllo

## OBIETTIVO DELLO STUDIO

Avendo stabilito il livello di sensibilità dell'LTT, studi in laboratorio stanno evidenziando significative risposte in un range di metalli ambientali comuni. In particolare nickel, mercurio e molibdeno stanno dimostrando di essere potenti attivatori della conversione di rimanenti cellule T in linfoblasti. Questa trasformazione da uno stato di quiete alla proliferazione è fondamentale nell'inizio della risposta allergica di tipo IV e questi cambiamenti osservati in vitro hanno dimostrato di essere correlati alla risposta clinica.

Sebbene per qualche anno si fosse ritenuto che i metalli come il nickel possono attivare la cascata infiammatoria, il meccanismo con cui ciò si realizza risulta ancora sconosciuto. Nel caso del Nickel tuttavia, può far luce una pubblicazione dello scorso anno sulla rivista Nature Immunology: il lavoro di Schmidt e colleghi a Mannheim, Germania, ha messo in evidenza come il Nickel può direttamente attivare il recettore Toll-4 (TLR-4). Questi recettori sono fondamentali nel segnalare la presenza di fattori ambientali estranei, come

microrganismi, al sistema immunitario innato

### L'importanza di tali riscontri è notevole:

**1)** L'evidenza è nell'accumulazione di concentrati di nickel nei tumori alla mammella: essi risultano all'incirca 100 volte superiori a quelli presenti nei tessuti non tumorali, nonché maggiori di una recente dimostrazione del funzionamento dei recettori Toll nelle cellule cancerose della mammella <sup>(6)</sup>.

**2)** In aggiunta a ciò, i recettori Toll sono espressi sui macrofagi e sulle cellule dendritiche del sistema immunitario e pertanto le risposte allergiche al Nickel possono essere mediate da segnali generati dai macrofagi Toll<sup>7)</sup>

**3)** Da circa cinque o più anni, si ritiene che i polisaccaridi fungini siano in grado di interagire con il sistema Toll recettoriale. Considerando il lavoro descritto in precedenza, questi rilievi aumentano la possibilità che i polisaccaridi, attraverso un'interazione con i recettori Toll, possano giocare un ruolo nella prevenzione dei cambiamenti pre-neoplastici attraverso una diretta interazione con i recettori Toll mammari (in competizione con i legami metallici).

I polisaccaridi fungini e gli enzimi antiossidanti, presenti nella preparazione da biomassa, possono inoltre ridurre lo stato di attivazione del sistema immunitario attraverso

**1)** Blocco in sito di una risposta immune di iper riattivazione ai metalli da parte dei tessuti mammari pre-neoplastici o bloccando gli effetti dei metalli rilasciati dai tumori mammari (i tessuti tumorali mammari concentrano i metalli rilasciati alla morte delle cellule tumorali legate ad un innalzamento del processo infiammatorio).

**2)** Modulando l'attività della risposta immunitaria sistemica ad allergeni metallici, riducendo così l'ipersensibilità di tipo IV.

## DESCRIZIONE DELLO STUDIO

Rispetto alle diverse tipologie di studi realizzati sopra, il sistema LTT sarà usato per studiare gli effetti di funghi nutrienti MRL sulla risposta dei linfociti-T al Nickel e ad altri metalli come mercurio e molibdeno. Come primo livello, si è proposto che gli esperimenti fossero stabiliti dove gli estratti acquosi di prodotti MRL fossero incubati con linfociti-T in assenza ed in presenza di metalli. Questi esperimenti indirizzeranno le proprietà immunomodulatorie degli estratti a livello cellulare.

## RAZIONALE DELLO STUDIO

Gli autori della presente ricerca ritenevano che gli studi sui dati di MRL prodotti alterino il bilancio Th1 Th2 a favore della risposta antitumorale cellulo-mediata. Tali risposte, tuttavia, non sono state confermate da cellule in vitro ed il test LTT rappresenta un sistema ideale sperimentale.

Le precedenti osservazioni realizzate in vitro supportano la tesi del ruolo dei prodotti della biomassa come attivatori delle cellule monocito/macrofagiche/dendritiche dirette alla cascata antitumorale. Se ciò è importante per una condizione neoplastica esistente, in quanto

agente in grado di bloccare la risposta infiammatoria che induce alla formazione tumorale, ciò dovrebbe essere anche necessario per i componenti della biomassa nel bloccare i recettori Toll mediante la risposta infiammatoria. Per tale motivo di recente si è realizzato uno studio che dimostra come questi ligandi per i recettori Toll siano in grado di inibire gli stimoli pro-infiammatori.<sup>(8)</sup>

#### Referenza:

(1) **Coussens LM and Werb Z.** Nature (Dec 19-26;420 (6917):860-7 (2002).

(2) **Valentine-Thon E, Müller K, Guzzi G, Kreisel S, Ohnsorge P and Sandkamp M.** Neuro Endocrinol Lett 27(1): 17-24 (2006).

(3) **Goebeler M, Roth J, Brocker EB, Sorg C, Schulze-Osthoff K. J.** Immunol 155: 2459-2467 (1995).

(4) **Schmidt M, Raghavan, B, Müller V, Vogl T, Fejer G, Tchaptchet S, Keck S, Kalis C, Nielsen PJ, Galanos C, Roth J, Skerra A, Martin SF, Freudenberg MA and Goebeler M.** Nature Immunology August 15, 1-7 (2010)

(5) **Ionescu JG, Novotny J, Stejskal V, Lätsch A, Blaurock-Busch E, Eisenmann-Klein M.** Neuro Endocrinol Lett 27(1): 36-39 (2006)

(6) **Newton CJ, Bilko D, Stalla G and Renner U.** Endocrine Abstracts 25: P172 (2011)

(7) **Chang R.** Annals of Traditional Chinese Medicine Vol 3: Alternative Treatment for Cancer pp285-299 (2007)

(8) **Long EM, Klimowicz AC, Paula-Netob HA, Millenb B, McCafferty D-M, Kubesh P, and Robbins SM.** PNAS 108: 16357-16362 (2011)

## Estratti di ricerche di citogenetica sull'attivazione batterica degli Immunorecettori delle cellule cancerose in collaborazione con l'Istituto Max-Planck di Monaco di Baviera

### Chris J. Newton PhD.

Laboratori di ricerca citogenetica 'CytoGenex Research Ltd', Indirizzo: The Jacob's Wall Yard, Swinemoor Lane, Beverley, East Yorkshire, HU17 0BX

email: [cjnewton@cytogenex.com](mailto:cjnewton@cytogenex.com)

Batteri sangue-derivati, funghi e agenti virali possono attivare le cellule del sistema immunitario attraverso l'interazione con lo schema di riconoscimento o con i recettori Toll sulla superficie delle cellule immunitarie.

E' stato dimostrato che l'mRNA dei recettori Toll è ubiquitariamente espresso in un range di tipi cellulari sia trasformati che normali. Queste scoperte aumentano la possibilità che l'infezione possa indurre una risposta infiammatoria in tessuti somatici e questo può:

- 1) predisporre l'ambiente a cambiamenti nelle cellule normali che portino alla crescita neoplastica e/o
- 2) predisporre condizioni adatte per accrescere lo sviluppo di una lesione neoplastica esistente.

Come passo preliminare per analizzare ciò, si è scelto di esaminare la risposta delle cellule del tumore mammario MCF-7 esposte ad una popolazione sonicata mista di batteri. Usando PCR quantitativa e primers per recettori Toll 1-10, è stato dimostrato che in 24 ore di

esposizione a cellule batteriche sonicate si registra l'espressione di mRNA per Toll-2 e Toll-4 fra le 5 e le 8 volte.

L'espressione di altri recettori Toll non è stata significativamente alterata, dato che la citochina IL-6 è indotta nelle cellule immunitarie nei recettori Toll-4, come peraltro dimostrato dal QPCR, che la mRNA di questa citochina infiammatoria è decisamente indotta nelle cellule MCF-7 dall'esposizione dai batteri sonicati e che questo effetto è bloccato da una previa esposizione delle cellule MCF-7 al desametasone. Questa scoperta suggerisce con forza l'ipotesi che tutto il sistema infiammatorio Toll- mediato è presente nelle cellule tumorali mammarie ed esso fornisce il razionale per la terapia del tumore connesso ai recettori Toll. Suggerisce inoltre che l'infezione da batteri o micoplasmi può giocare un ruolo nella formazione del tumore o che l'infezione può accelerare la crescita di una lesione esistente.

**Ref:** Newton CJ, Bilko D, Stalla G and Renner U. *Endocrine Abstracts* 25: P172 (2011)



## Prof A. Karmali

Divisione di Biotecnologia, Istituto Superiore di Ingegneria di Lisbona. Via Conselheiro Emídio Navarro 1900-Lisbona, Portogallo  
(Tel:00-351-21-831-7052; Fax:00-351-21-831-7267 **email:** akarmali@deq.isel.ipl.pt)

Un numero rilevante di patologie, inclusi carcinogenesi e degenerazione cellulare correlati all'età, sono dovute alle specie reattive dell'ossigeno (ROS), o a radicali superossidi. Queste specie reattive dell'ossigeno sono prodotte dall'esposizione solare, radiazioni ultraviolette, reazioni chimiche, come pure da processi metabolici, e sono tossiche per le cellule viventi in quanto ossidano e degradano importanti macromolecole biologiche come lipidi e proteine(1).

Il mantenimento della salute e l'assenza di condizioni croniche di degenerazione tuttavia dipende in larga parte dall'abilità del corpo di neutralizzare, in altre parole detossificare, questi ROS.

Nella battaglia del corpo contro i ROS è fondamentale il numero di sistemi enzimatici, principalmente il superossido dismutasi (SOD), che catalizza la distruzione dei radicali superossidi e perciò protegge le cellule che metabolizzano l'ossigeno dagli effetti dannosi di questi radicali liberi. Diversi ricercatori hanno dimostrato che il SOD è coinvolto in patologie come il Parkinson, cancro e anemia. Un altro importante sistema enzimatico è il citocromo "P-450" che è collocato nel reticolo endoplasmatico e gioca un ruolo importante nel metabolismo e nella detossificazione di sostanze endogene. La terapia enzimatica inoltre ha dimostrato di giocare un ruolo importante in diverse condizioni cliniche inclusi il cancro, linfomi maligni e disordini cardiovascolari. Da migliaia di anni i funghi sono riconosciuti come possessori di proprietà medicinali, e i funghi basidiomiceti superiori sono stati impiegati nella nutrizione clinica per il loro effetto anti tumorale, immunomodulante, cardiovascolare ed anti microbico. Stiamo dimostrando che i funghi sono ricche fonti di molti enzimi, tanto quanto altre sostanze di interesse terapeutico, come complessi polisaccaridici legati a proteine (per esempio PSK, PSP e lentinano) e metaboliti secondari (ad esempio terpeni, alcaloidi e lattoni). Diversi funghi hanno dimostrato di contenere sostanze che mimano l'attività SOD ed il sistema enzimatico citocromo "P450" è anche stato trovato in qualche fungo superiore basidio micete.

Altri enzimi presenti in funghi usati clinicamente includono laccasi, glucosio ossidasi e perossidasi. E' importante considerare che le proprietà detossificanti ed enzimatiche dei funghi sono in larga parte dovute al duro ambiente colonizzato dal micelio degli stessi e le alte concentrazioni di radicali liberi prodotte ne rappresentano la relativa protezione. In questa connessione vale la pena osservare che questi

enzimi sono stati trovati quasi esclusivamente nel micelio fungino e per questa ragione le preparazioni derivate dai corpi fruttiferi hanno frequentemente livelli molto più bassi di attività enzimatica rispetto a quelli derivati dal micelio fungino. Nel presente lavoro, abbiamo indagato i livelli di SOD, citocromo P450, citocromo "P450" reducttasi (NADPH dipendente) e metaboliti secondari trombino inibitori nei seguenti funghi: *Coriolus versicolor*, *Cordyceps sinensis*, *Ganoderma lucidum* (reishi) e *Grifola frondosa* (Maitake).

Ci sono numerosi metaboliti secondari nei funghi che giocano un ruolo importante quali inibitori della trombina e, dal momento che la trombina è un'importante proteasi del sistema di coagulazione, questi rappresentano un auspicabile obiettivo nell' inibizione della coagulazione sanguigna, che si desidera ottenere combattendo molte condizioni correlate all'età.

In ordine alla stimolazione del tratto intestinale umano abbiamo trattato i funghi con i seguenti enzimi proteolitici;

1. **Pepsina** (500 UI/g biomassa) a Ph 2 per 30 minuti e a 37°C in un incubatore con centrifuga orbitale.
2. **Tripsina** (500 UI/g biomassa) a Ph 7,6 per 30 minuti a 37° C in un incubatore con centrifuga orbitale.

L'analisi del SOD, citocromo "P450", citocromo "P450" reducttasi (NADPH dipendente) e metaboliti secondari inibitori della trombina nel *Coriolus versicolor*, *Cordyceps sinensis*, *Ganoderma lucidum* (Reishi) e *Grifola frondosa* (Maitake) ha prodotto i seguenti risultati:

I dati riportati in queste tavole rivelano che la stimolazione del tratto intestinale con pepsina e tripsina decrementa gli enzimi ed i metaboliti secondari del 15-20%.

### Conclusioni:

I funghi contengono diversi ed importanti enzimi coinvolti nei processi di detossificazione (per es. citocromo "P450") e di distruzione dei radicali liberi superossidi (per es. attività SOD) come pure metaboliti secondari che agiscono come inibitori della trombina. Ulteriori ricerche sono necessarie per studiare gli effetti della nutrizione con i funghi sui livelli di alcune proteine chiave ed enzimi in vivo

Tabella 1: In assenza di enzimi proteolitici\*

Enzimi e metaboliti secondari	Maitake ( <i>Grifola frondosa</i> )	Reishi ( <i>Ganoderma lucidum</i> )	<i>Coriolus versicolor</i>	<i>Cordyceps sinensis</i>
<b>Analisi per compressa (500 mg)*</b>				
1. Attività del superossido dismutasi (SOD)	70,2 U	50,4 U	77,1 U	77,1 U
2. Citocromo "P450"	0,60 nmoles	0,66 nmoles	0,51 nmoles	0,25 nmoles
3. Citocromo "P450" reducttasi	7,14 mU	7,04 mU	11,9 mU	4,14 mU
4. Metaboliti secondari (inibitori di trombina)	49%	4,4%	11,9 mU	56%

Tabella 2. In presenza di Pepsina\*

Enzimi e Metaboliti secondari	Maitake ( <i>Grifola frondosa</i> )	Reishi ( <i>Ganoderma lucidum</i> )	<i>Coriolus versicolor</i>	<i>Cordyceps sinensis</i>
<b>Analisi per compressa (500 mg)*</b>				
1. Attività del superossido dismutasi (SOD)	58,7 U	41,3 U	61,2 U	49,5U
2. Citocromo "P450"	0,48 nmoles	0,53 nmoles	0,49 nmoles	0,24 nmoles
3. Citocromo "P450" reductasa	6,06 mU	5,92 mU	9,52 mU	3,80 mU
4. Metaboliti secondari (inibitori di trombina)	46, 5%	3,7%	54,2%	50,9%

Tabella 3. In presenza di tripsina\*

Enzimi e Metaboliti secondari	Maitake ( <i>Grifola frondosa</i> )	Reishi ( <i>Ganoderma lucidum</i> )	<i>Coriolus versicolor</i>	<i>Cordyceps sinensis</i>
<b>Analisi per compressa (500 mg)*</b>				
1. Attività del superossido dismutasi (SOD)	69,5 U	51,4 U	68,5 U	90,6 U
2. Citocromo "P450"	0,58 nmoles	0,63 nmoles	0,52 nmoles	0,24 nmoles
3. Citocromo "P450" reductasa	7,03 mU	6,98 mU	11,1 mU	4,02 mU
4. Metaboliti secondari (inibitori di trombina)	46%	3,7%	52 %	57 %

che sono coinvolti in diverse condizioni cliniche includendo malattie cardiovascolari, cancro, HIV e disordini neurologici.

#### Referenza:

1. Angelova, M., Stoeva, S. and Voelter, W. (2001) " A novel glycosylated Cu/ Zn- containing superoxide dismutase: production and potential therapeutic effect" Microbiology 147, 1641-1650.
2. Jacob, C., Courbot, M., Brun, A. and Chalot, M. (2001) " Molecular cloning and regulation of superoxide dismutase from fungus *Paxillus involutus*" Eur.J. Biochem. 268, 3223-3232.
3. Ichinose, H., Wariishi, H. and Tanaka, H. (2002) "Identification and hetelogenous expression of the cytochrome P-450 oxidoreductase from the white rot *Coriolus versicolor*" Appl. Microbiol. And Biotech. 59, 658-664.
4. Ossowski, L , Mira y Lopez R (1996) "Proteolytic enzymes in cancer invasion " Enzyme protein 49, 5-6.
5. Gubareva, A A (1998) "The use of enzymes in treating patients with malignant lymphoma with large tumour mass" Lik Sprava 6, 141-143
6. Wasser, S.P. and Weis, A.L. (1999) "Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective" Crit Rev. Immunol 19,65-96.

7. Ng TB (1998) " A review of research on the protein-bound polysaccharide from the mushroom *Coriolus versicolor* " Gen Pharmacol 30, 1-4

8. Karmali A and Oliveira, P (1999) "Glucose 1- and 2- oxidases from fungal strains, isolation and production of monoclonal antibodies J. Biotechnology 69, 151- 62.

9. Hobbs, C. (1995) " Medicinal mushrooms: An exploration of traditional, healing and Culture" Santa Cruz, CA, Botanical Press.

10. Doljak, B., Stegnar, M, Urleb, U. and Popovic, T. (2001) " Screening for selective thrombin inhibitors in mushrooms" Blood Coagulation Fibrinolysis 12, 123.

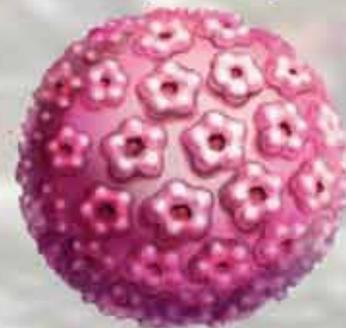
\*Mushroom samples (in tablet form) were composed of the mycelium and primordia of the respective mushrooms and were provided by Mycology Research Laboratories Ltd. [www.mycologyresearch.com](http://www.mycologyresearch.com)

J. Silva Couto<sup>1</sup>, L. Salgueiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gynaecology Department - Portuguese Institute of Oncology- Cervical Pathology Unit, Coimbra, Portugal.

<sup>2</sup>CEF/Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, Coimbra, Portugal

Jsilvacouto@netcabo.pt



*Coriolus versicolor* (biomass) is a mushroom with immuno-stimulant properties used in traditional Asian cultures, namely in China and Japan, as a dietary supplement.

## Objectives

With the aim of evaluating the therapeutical effects in patients with cervical Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions (LSIL) caused by HPV (Human Papillomavirus) infection, a group of 43 LSIL patients (confirmed by cytology, colposcopy and biopsy) was randomly divided into 2 sub-groups: the first group received treatment with *Coriolus versicolor* for 1 year (6 tablets/day-3 g). The control group did not receive any treatment. In neither group was any therapeutic procedure performed (cryotherapy, electrocoagulation or laser vaporization).

## Results

Thirty nine (39) patients already concluded one year of follow-up. The first time they were controlled, 22 patients had HPV+ High Risk.

Eighteen (18) patients took *Coriolus* supplementation, while the other 21 patients had no therapy (control), all being under clinical observation for 365 days.

Of the 22 patients who showed HPV+ High Risk typification, 10 patients took *Coriolus* supplementation and 12 patients did not.

Of the 18 patients who took *Coriolus* supplementation over one year, 13 (72,5%) still showed normal cervical cytology, after one year of follow up.

Of the 21 patients who did not take any supplementation, 10 (47,5%) still showed normal cervical cytology after one year of follow-up.

Regarding HPV typification, from 10 patients who had HPV+ High Risk and took *Coriolus* supplementation, 9 (90%) reverted to HPV - status after one year.

On the other hand, of the 12 HPV+ High Risk status patients who did not take *Coriolus* supplementation, only 1 (8,5%) reverted to HPV - status.

## Material and Methods

All patients were confirmed by cytology to be LSIL carriers. In the first consultation patients underwent both cytology and biopsy to confirm the LSIL. In the same consultation HPV typing was screened. With the confirmation of LSIL diagnosis a randomization of the group was undertaken. In the second consultation cytology was essayed to assess the LSIL status of the patient and a questionnaire on side-effects was performed. In the third consultation the patients underwent cytology and HPV typing.

Table 1. Results of the treatment of Low-grade Squamous Epithelial Lesions (LSIL)

	With <i>Coriolus versicolor</i>		Without supplementation		Total
	Normal after 1 year	Positive after 1 year	Normal after 1 year	Positive after 1 year	
Citology	13 (72,5%)	5 (27,5%)	10 (47,5%)	11 (52,5%)	39
HPV	9 (90%)	1 (10%)	1 (8,5%)	11 (91,5%)	22

## Low-grade Squamous Epithelial Lesions (LSIL)-% of regression (1 year)

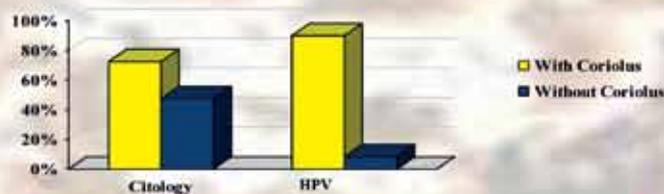


Fig.1 - Percentage of regression of citologies LSIL and HPV + in LSIL patients

## Conclusions

The use of *CORIOLUS VERSICOLOR* for 1 year revealed a great efficacy, whether in the regression of the displasia of Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions (LSIL), or in the disappearance of the High Risk HPV.

It seems therefore, to be a very useful food supplementation with positive therapeutic impact, either in the reversion of LSIL (with High Risk HPV+), or in those HSIL patients, who have undergone surgery but experience continued High Risk HPV viral count.