

Rivista Clinica di Micologia

Maggio, 2014 Volume 5 - versione Italiana*

Rivista clinica di micologia rivolta a operatori sanitari e dedicata alla diffusione di informazioni sull'uso clinico della nutrizione con i funghi

Nutrizione con i funghi quale target di nuove strategie terapeutiche: rilevanza degli approcci nutrizionali e modulazione redox antiossidante nella medicina anti aging.

Calabrese V.1, Cornelius C.1, Cavallaro M.1, Cambria M.1, Toscano M.A.2

⁽¹⁾ Dipartimento di Chimica e ⁽²⁾ Dipartimento di Scienze Microbiologiche, Università di Catania, 95100 Catania, Italia.

- Pagina 2

Analisi comparativa degli enzimi di *Polyporus umbellatus*, *Agaricus blazei*, *Pleurotus osteratus* e *Hericium erinaceus*.

Cornelius C., Cavallaro M., Cambria M.T., Toscano M.A. and Calabrese V.

⁽¹⁾ Dipartimento di Chimica e ⁽²⁾ Dipartimento di Scienze Microbiologiche, Università di Catania, 95100 Catania, Italia.

- Pagina 5

L'integratore *Coriolus versicolor* quale immunonutriente in pazienti HPV con lesioni cervicali (LSIL)

Silva Couto J., Pereira da Silva D.

Dipartimento di Ginecologia – divisione di Patologia Cervicale, Istituto Portoghese di Oncologia, 3000-075 Coimbra, Portogallo.

- Pagina 8

* Versione Originale Inglese Gennaio 2009

£7.00 \$14.00 €10.50

Nutrizione con i funghi quale target di nuove strategie terapeutiche: rilevanza degli approcci nutrizionali e modulazione redox antiossidante nella medicina anti aging

Calabrese V.¹, Cornelius C.¹, Cavallaro M.¹, Cambria M.¹, Toscano MA²

⁽¹⁾Dipartimento di Chimica e ⁽²⁾Dipartimento di Scienze Microbiologiche, Università di Catania, 95100 Catania, Italia.

Razionale scientifico

Cresce sempre più l'interesse verso i benefici effetti dei funghi commestibili in numerose patologie, molte delle quali associate con stress ossidativo e con danni cellulari indotti da radicali liberi⁽¹⁾. Da migliaia di anni, in tutto il mondo i funghi rivestono un ruolo speciale sia come cibo sia come medicina, in particolar modo in Asia, dove il loro uso medicinale è già descritto e molteplici studi citano la loro efficacia su cancro, Aids, fatica cronica ed epatite.

Diversi studi clinici e di laboratorio dimostrano che sono i complessi polisaccaridi legati a proteine derivanti dal *Coriolus versicolor* o dal *Lentinula edodes* la componente più importante responsabile per le attività immuno-stimolanti e anti-tumorali associate all'attività che simula la superossido dismutasi. Questa si deve a una piccola componente peptidica che può mitigare lo stress ossidativo in pazienti oncologici. I funghi sono inoltre un nuovo target terapeutico per quelle le strategie citoprotettive che si focalizzano sul loro potenziale nutritivo, in grado di produrre benefici sulla salute attraverso la modulazione della funzione immunitaria.

I funghi contengono una quantità di enzimi – oltre ad altri fattori non ancora completamente definiti – che possono partecipare a diverse condizioni cliniche, quali tumori, cancro e disordini cardiovascolari e già si conosce l'importanza del ruolo giocato dalla terapia enzimatica in queste patologie⁽²⁾.

La maggior parte delle sostanze chimiche alle quali gli esseri umani sono esposti, e che aumentano il rischio di cancro, richiedono l'attivazione metabolica dagli enzimi microsomiali, i quali metabolizzano anche steroidi e droghe. Tale attivazione include la formazione di metaboliti mutagenici e carcinogeni che possono interagire con il DNA delle cellule target. Queste e altre reazioni possono rendere idrosolubili i metaboliti reattivi e consentirne l'eliminazione, combinandoli con glutazione, solfati e glucuronide⁽³⁾.

Alcuni composti vegetali, molti dei quali possono essere già inclusi nella dieta, possono fornire protezione contro la formazione e l'azione di metaboliti mutagenici e cancerogeni⁽³⁾. Diversi studi indicano che si può associare l'azione chemio-protettiva di alcuni fitochimici con uno o più dei seguenti meccanismi: (a) inibizione dell'attivazione metabolica; (b) prevenzione dell'interazione di metaboliti reattivi con cellule di DNA; (c) migliore disintossicazione dei metaboliti reattivi; (d) soppressione dei meccanismi di progressione tumorale⁽⁴⁾.

Tenendo in considerazione i recenti studi che indicano come, in molte malattie, gli enzimi dei funghi possano prevenire lo stress ossidativo e, al tempo stesso, inibire la crescita cellulare, sono stati analizzati i contenuti di enzimi e proteine di diversi funghi, simulando il percorso dell'intestino umano. Gli studi riportano come manchino attività quali di laccasi o perossidasi nella biomassa del *Polyporus umbellatus* e dell'*Agaricus blazei*. Però, dopo la lisi cellulare nell'*Hericium erinaceus* e nel *Plerotus osteratus* sono stati riscontrati significativi livelli di attività di laccasi e, in misura minore, di attività di perossidasi. Altrettanto alti i livelli di attività di tirosinasi, in particolar modo nell'*Agaricus blazei*,

confrontati con altre specie nelle quali si osservano ancora significativi livelli di attività enzimatica.

La superossido dismutasi è essenziale per contrastare le specie reattive all'ossigeno, o radicali superossidi. Molteplici condizioni patologiche, compresi carcinogenesi e degenerazione cellulare legata all'età, si devono alle specie reattive all'ossigeno, prodotte dalla luce del sole, da radiazioni ultraviolette, da reazioni chimiche così come anche da processi metabolici, tossiche per le cellule viventi poiché ossidano e degradano importanti macromolecole biologiche, quali lipidi, zuccheri, proteine e acidi nucleici.

Un certo numero di sistemi enzimatici sono fondamentali per la capacità del corpo di resistere ai dannosi effetti delle specie reattive all'ossigeno; tra questi, in modo particolare troviamo la superossido dismutasi, che catalizza la distruzione dei radicali superossidi, e protegge, quindi, le cellule che metabolizzano ossigeno dai danni di tali radicali liberi. Molti studiosi hanno mostrato che la superossido dismutasi è coinvolto in svariate patologie, tanto diverse quali il Parkinson, il cancro e l'anemia.

La superossido dismutasi misurato in campioni di funghi eduli ha mostrato, specialmente nell'*Agaricus blazei* e nel *Polyporus umbellatus*, un'importante attività, anche se è nel *Pleurotus ostreatus* e nell'*Hericium erinaceus* che si riscontrano i valori più alti di attività SOD (si veda articolo seguente).*

Molte prove suggeriscono con forza la presenza di importanti enzimi antiossidanti e citoprotettivi in diversi funghi eduli, sottolineando il valore di una strategia terapeutica che si basi su interventi nutrizionali con integratori a base di funghi per prevenire e limitare le nocive conseguenze associate ai danni indotti dai radicali liberi in malattie da stress ossidativo quali cancro, malattie coronariche e neurodegenerative⁽⁵⁾.

Processi neurodegenerativi

Il cervello, pur avendo un elevato metabolismo ossidativo, ha una limitata abilità di contrastare lo stress ossidativo⁽⁶⁻⁸⁾. All'interno della cellula, le specie reattive all'ossigeno (ROS) sono fisiologicamente presenti in concentrazione minima come sotto-prodotti del metabolismo aerobico così come secondi messaggeri in molte vie di trasduzione del segnale. In condizioni normali esiste un equilibrio di stato stazionario tra pro-ossidanti e anti-ossidanti, necessario ad assicurare un'efficienza ottimale delle difese antiossidanti⁽⁹⁻¹²⁾.

Quando, però, il tasso di produzione di radicali liberi eccede la capacità delle difese antiossidanti, la conseguenza è stress ossidativo e relativi, severi, danni a DNA, proteine e lipidi⁽¹³⁻¹⁵⁾. Si ritiene che tale stress ossidativo abbia a che fare con i meccanismi che danneggiano le cellule neuronali in vari stati patologici del cervello, compresi i disordini neurodegenerativi quale l'Alzheimer⁽¹⁶⁻²⁰⁾. Si è recentemente utilizzato il termine "stress nitrosativo", indicare il danno cellulare provocato dall'ossido nitrico, e si verifica quando l'anione superossido si combina con l'ossido nitrico generando molecole intermedie come



Calabrese V.¹, Cornelius C.¹, Cavallaro M.¹, Cambria M.¹, Toscano MA²

¹Dipartimento di Chimica e ²Dipartimento di Scienze Microbiologiche, Università di Catania, 95100 Catania, Italia. Email:calabres@unicit.it

il perossinitrito. Questa molecola altamente reattiva può reagire con gruppi sulfidrilici formando nitrosotioili, e inducendo stress nitrosativo, ed altresì formare intermedi reattivi come N2O3, anione nitrossile e nitrosonio (tutti questi intermedi reattivi possono essere indicati come specie reattive dell'ossido nitrico o RNS)⁽²¹⁻²³⁾.

Da un punto di vista molecolare, le cellule del sistema nervoso centrale (SNC) hanno molte risorse per combattere lo stress ossidativo, incluso le vitamine (A, C ed E), o molecole bioattive (glutazione, tioredossina, flavonoidi), acido lipoico, proteine enzimatiche e non (per es., superossido dismutasi, catalasi, glutazione perossidasi, tioredossina riduttasi, proteine da shock termico quali Hsps70 e Hsp32, ecc.) e fattori di trascrizione redox sensibili (ad es., AP-1, NFkB, Nrf2, HSF)⁽²⁴⁻²⁶⁾. Le Hsps, proteine da shock termico, sono uno dei più studiati sistemi di difesa attivi contro il danno cellulare.

Gli scienziati hanno supposto la natura pervasiva dei radicali liberi fin da quando il gruppo di Britton Chance⁽²⁷⁾ mise a punto le tecniche biochimiche di base per mostrare che, a riposo, il 2% di tutto l'ossigeno consumato dalle cellule veniva convertito in specie reattive all'ossigeno (ROS) piuttosto che in acqua. McCord e Fridovich, per primi hanno descritto la superossido dismutasi, suggerendo così un ruolo fisiologico del superossido⁽²⁸⁾.

Sebbene si cominci a considerare che la produzione fisiologica dei ROS sia probabilmente di minore portata, il loro impatto sulle biomolecole è comunque ampiamente documentato. Per rispondere a quest'attacco, la cellula ha sviluppato una quantità di sistemi di difesa anti-ossidanti, quali la superossido dismutasi, la perossidasi, il ciclo redox del glutazione con i suoi enzimi costitutivi associati e lo stesso glutazione, la cui concentrazione nella cellula è maggiore di quella del glucosio⁽²⁷⁾. Come si vede, la cellula è ben equipaggiata per far fronte alla normale produzione di specie molecolari reattive.

Ci sono sempre più dati che mostrano come la continua presenza di un piccolo stimolo, quale le basse concentrazioni di ROS, sia, di fatto, in grado di indurre il manifestarsi di enzimi antiossidanti e di altri meccanismi di difesa. La logica di questo fenomeno può essere contenuta dal concetto di ormési⁽²⁹⁾, termine che indica risposte biologiche, generalmente favorevoli, a basse esposizioni di tossine e ad altri fattori di stress, e che possono caratterizzarsi come una particolare relazione dose-risposta nella quale un basso dosaggio di una sostanza stimola mentre un alto dosaggio inibisce. In questo contesto i radicali possono essere considerati un beneficio, in quanto agiscono quali segnali che fanno aumentare le difese, piuttosto che essere deleteri, come lo sono quando le cellule vengono esposte ad alti livelli di ROS.

D'altra parte gli ossidanti, quando in eccesso, possono, sul lungo periodo, disturbare l'omeostasi redox, imporre uno stress ossidativo e portare, di conseguenza, a un'importante perdita di fedeltà molecolare, causa principale dell'accumulo di proteine mal assemblate nelle cellule cerebrali. Il morbo di Alzheimer, di Parkinson, la malattia di Huntington, ma anche la sclerosi amiotrofica laterale e l'atassia di Friedreich, appartengono alle cosiddette "malattie da alterata

conformazione proteica" che colpiscono milioni di anziani in tutto il mondo⁽²⁶⁾.

Le cellule hanno sviluppato meccanismi quali l'UPR (unfolded protein response), con i quali chaperones molecolari possono legarsi a tali proteine rompendo gli aggregati e accompagnando il processo di ripiegamento, mentre altri chaperones consegnano proteine non recuperabili al complesso macromolecolare denominato proteasoma affinché vengano riciclate⁽³⁰⁾. Generalmente parlando, malattia alterata struttura delle proteine sono condizioni che sorgono dall'aggregazione non funzionale di proteine in forme non-native. Ciò è spesso associato a squilibri metabolici multipli, con conseguente eccessiva produzione di ROS e stress ossidativo⁽³⁰⁾.

La capacità di una cellula di competere con concentrazioni sopra-fisiologiche di ROS e le RNS richiede l'attivazione di percorsi pro-sopravvivenza, così come la produzione di molecole dotate di attività anti-ossidante e anti-apoptotica.

È plausibile sfruttare la possibilità che la nutrizione con i funghi possa attivare, all'interno delle cellule cerebrali, processi di segnalazione, portando a una maggiore resistenza allo stress cellulare. Si aprirebbero così nuovi orizzonti terapeutici per contrastare i deleteri effetti dovuti al danno ossidativo in neuroni vulnerabili e, di conseguenza, le malattie degenerative dovute a morte cellulare⁽³¹⁻⁵³⁾.

*I campioni di biomassa di *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus*, *Polyporus umbellatus* e *Hericium erinaceus* necessari allo studio sono stati forniti dai Mycology Research Laboratories Ltd. (www.mycologyresearch.com)

References:

1. Angelova M, Dolashka-Angelova P, Ivanova E, Serkedjieva J, Slokoska L, Pashova S, Toshkova R, Vassilev S, Simeonov I, Hartmann HJ, Stoeva S, Weser U, Voelter W. (2001) A novel glycosylated Cu/Zn-containing superoxide dismutase: production and potential therapeutic effect. *Microbiology* 147, 1641-1640.
2. Harhaji Lj, Mijatovi, S, Maksimovi-Ivani. D, Stojanovi. I, Momcilovi. M, Maksimovi. V, Tufegdzi. S, Marjanovi. Z, Mostarica-Stojkovi. M, Vucini. Z, Stosi.-Grujici. S. (2008) Anti-tumor effect of *Coriolus versicolor* methanol extract against mouse B16 melanoma cells: in vitro and in vivo study. *Food Chem Toxicol* 46, 1825-1833.
3. Borchers AT, Krishnamurthy A, Keen CL, Meyers FJ, Gershwin ME. (2008) *The immunobiology of mushrooms*. *Exp. Biol. Med.* 233, 259-276.
4. Calabrese V., Bates T.E., Mancuso C., Cornelius C., Ventimiglia B., Cambria M.T., Di Renzo L., De Lorenzo A., Dinkova-Kostova A.T. (2008) Curcumin and the cellular stress response in free radical-related diseases. *Mol. Nutr. Food Res.* 52, 1062-1073.
5. Calabrese V., Calafato S., Puleo E., Cornelius C., Sapienza M., Morganti P., Mancuso C. (2008) Redox regulation of cellular stress response by ferulic acid ethyl ester in human dermal fibroblasts: role of vitagenes. *Clin. Dermatol.* 26, 358-363.
6. Halliwell B. (2008) Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Arch Biochem Biophys.* 476, 107-112.
7. Calabrese V., Scapagnini G., Colombrita C., Ravagna A., Pennisi G., Giuffrida Stella A.M., Galli F., Butterfield D.A. (2003) Redox regulation of heat shock protein expression in aging and neurodegenerative disorders associated with

- oxidative stress: A nutritional approach. *Amino Acids* 25:437-444.
8. Poon H.F., Calabrese V., Scapagnini G., Butterfield D.A. (2004) Free radicals: key to brain aging and heme oxygenase as a cellular response to oxidative stress. *J. Gerontology* 59:478-493.
9. Forman H.J., Fukuto J.M., Torres M. (2004) Redox signaling: thiol chemistry defines which reactive oxygen and nitrogen species can act as second messengers. *Am J Physiol Cell Physiol.* 287:246-256.
10. Poon H.F., Calabrese V., Scapagnini G., Butterfield D.A. (2004) Free radicals and brain aging. *Clin. Geriatr. Med.* 20:329-359.
11. Calabrese V., Scapagnini G., Ravagna A., Colombrita C., Spadaro F., Butterfield D.A., Giuffrida Stella A.M. (2004) Increased expression of heat shock proteins in rat brain during aging: relationship with mitochondrial function and glutathione redox state. *Mech. Age Dev.* 125:325-335.
12. Calabrese V., Giuffrida Stella A.M., Butterfield D.A., Scapagnini G. (2004) Redox Regulation in Neurodegeneration and Longevity: Role of the Heme Oxygenase and HSP70 Systems in Brain Stress Tolerance. *Antioxid Redox Signal.* 6:895-913.
13. Halliwell B. (2002) Hypothesis: proteasomal dysfunction: a primary event in neurodegeneration that leads to oxidative and nitrosative stress and subsequent cell death. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 962:182-194.
14. Martindale J.L., Holbrook N.J. (2002) Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol.* 192:1-15.
15. Bergamini C.M., Gambetti S., Dondi A., Cervellati C. (2004) Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr. Pharm. Des.* 10:1611-1626.
16. Pappolla M.A., Chyan Y.J., Omar R.A., Hsiao K., Perry G., Smith M.A., Bozner P. (1998) Evidence of oxidative stress and *in vivo* neurotoxicity of beta-amyloid in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: a chronic oxidative paradigm for testing antioxidant therapies *in vivo*. *Am J Pathol* 152:871-877.
17. Smith M.A., Hirai K., Hsiao K., Pappolla M.A., Harris P.L., Siedlak S.L., Tabaton M., Perry G. (1998) Amyloid-beta deposition in Alzheimer transgenic mice is associated with oxidative stress. *J. Neurochem.* 70:2212-2215.
18. Butterfield D.A., Drake J., Pocernich C., Castegna A. (2001) Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid beta-peptide. *Trends Mol. Med.* 7:548-554.
19. Butterfield D.A., Lauderback C.M. (2002) Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid β -peptide-associated free radical oxidative stress. *Free Rad. Biol. Med.* 32:1050-1060.
20. Mattson M.P. (2004) Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* 430:631-639.
21. Drew B., Leeuwenburgh C. (2002) Aging and the role of reactive nitrogen species. *Ann. NY. Acad. Sci.* 959:66-81.
22. Kroncke K.D. (2003) Nitrosative stress and transcription. *Biol. Chem.* 384:1365-1377.
23. Ridnour L.A., Thomas D.D., Mancardi D., Espey M.G., Miranda K.M., Paolocci N., Felisch M., Fukuto J., Wink D.A. (2004) The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations. *Biol. Chem.* 385:1-10.
24. Calabrese V., Guagliano E., Sapienza M., Panebianco M., Calafato S., Puleo E., Pennisi G., Mancuso C., Butterfield D.A., Stella A.G. (2007) Redox regulation of cellular stress response in aging and neurodegenerative disorders: role of vitagenes. *Neurochem. Res.* 32:757-773.
25. Calabrese V., Boyd-Kimball D., Scapagnini G., Butterfield D.A. (2004) Nitric oxide and cellular stress response in brain aging and neurodegenerative disorders: the role of vitagenes. *In Vivo* 18:245-267.
26. Mancuso C., Scapagnini G., Curro D., Giuffrida Stella A.M., De Marco C., Butterfield D.A., Calabrese V. (2007) Mitochondrial dysfunction, free radical generation and cellular stress response in neurodegenerative disorders. *Front. Biosci.* 12:1107-1123.
27. Vina J., Borras C., Gomez-Cabrera M.C., Orr W.C. (2006) Part of the series: from dietary antioxidants to regulators in cellular signalling and gene expression. Role of reactive oxygen species and (phyto)estrogens in the modulation of adaptive response to stress. *Free Radic. Res.* 40:111-119.
28. McCord J.M., Fridovich I. (1988) Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). *Free Radic. Biol. Med.* 5:363-369.
29. Calabrese E.J., Staudenmayer J.W., Stanek E.J. (2006) Drug development and hormesis: changing conceptual understanding of the dose response creates new challenges and opportunities for more effective drugs. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 9:117-123.
30. Zhang K., Kaufman R.J. (2006) The unfolded protein response: A stress signaling pathway critical for health and disease. *Neurology* 66:102-109.
31. Andersen J.K. (2004) Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? *Nat. Med.* 10:18-25.
32. Mancuso C., Perluigi M., Cini C., De Marco C., Giuffrida Stella A.M., Calabrese V. (2006) Heme oxygenase and cyclooxygenase in the central nervous system: a functional interplay. *J. Neurosci. Res.* 84:1385-1391.
33. Panahian N., Yoshiura M., Maines M.D. (1999) Overexpression of heme oxygenase-1 is neuroprotective in a model of permanent middle cerebral artery occlusion in transgenic mice. *J. Neurochem.* 72:1187-1203.
34. Takeda A., Perry G., Abraham N.G., Dwyer B.E., Kutty R.K., Laitinen J.T., Petersen R.B., Smith M.A. (2000) Overexpression of heme oxygenase in neuronal cells, the possible interaction with Tau. *J. Biol. Chem.* 275:5395-5399.
35. Premkumar D.R., Smith M.A., Richey P.L., Petersen R.B., Castellani R., Kutty R.K., Wiggert B., Perry G., Kalaria R.N. (1995) Induction of heme oxygenase-1 mRNA and protein in neocortex and cerebral vessels in Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 65:1399-1402.
36. Schipper H.M. (2000) Heme oxygenase-1: role in brain aging and neurodegeneration. *Exp. Gerontol.* 35:821-830.
37. Mancuso C., Bates T.E., Butterfield D.A., Calafato S., Cornelius C., De Lorenzo A., Dinkova Kostova A.T., Calabrese V. (2007) Natural antioxidants in Alzheimer's disease. *Expert Opin. Investig. Drugs.* 16:1921-1931.
38. Butterfield D., Castegna A., Pocernich C., Drake J., Scapagnini G., Calabrese V. (2002) Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. *J. Nutr. Biochem.* 13:444-461.
39. Scapagnini G., Colombrita C., Amadio M., D'Agata V., Arcelli E., Sapienza M., Quattrone A., Calabrese V. (2006) Curcumin activates defensive genes and protects neurons against oxidative stress. *Antioxid. Redox. Signal.* 8:395-403.
40. Ganguli M., Chandra V., Kambh M.L., Johnston J.M., Dodge H.H., Thelma B.K., Juyal R.C., Pandav R., Belle S.H., DeKosky S.T. (2000) Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer disease: The Indo-US Cross-National Dementia Study. *Arch. Neurol.* 57:824-830.
41. Lim G.P., Chu T., Yang F., Beech W., Frautschy S.A., Cole G.M. (2001) The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J. Neurosci.* 21:8370-8377.
42. Wu L., Wang R. (2005) Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions, and pharmacological applications. *Pharmacol. Rev.* 57:585-630.
43. Kostoglou-Athanassiou I., Forsling M.L., Navarra P., Grossman A.B. (1996) Oxytocin release is inhibited by the generation of carbon monoxide from the rat hypothalamus--further evidence for carbon monoxide as a neuromodulator. *Brain Res Mol. Brain Res.* 42:301-306.
44. Mancuso C., Kostoglou-Athanassiou I., Forsling M.L., Grossman A.B., Preziosi P., Navarra P., Minotti G. (1997) Activation of heme oxygenase and consequent carbon monoxide formation inhibits the release of arginine vasopressin from rat hypothalamic explants. Molecular linkage between heme catabolism and neuroendocrine function. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 50:267-276.
45. Mancuso C., Ragazzoni E., Tringali G., Liberale I., Preziosi P., Grossman A., Navarra P. (1999) Inhibition of heme oxygenase in the central nervous system potentiates endotoxin-induced vasopressin release in the rat. *J. Neuroimmunol.* 99:189-194.
46. Parkes D., Kasckow J., Vale W. (1994) Carbon monoxide modulates secretion of corticotropin-releasing factor from rat hypothalamic cell cultures. *Brain Res.* 646:315-318.
47. Yoo B.C., Seidl R., Cairns N., Lubec G. (1999) Heat-shock protein 70 levels in brain of patients with Down syndrome and Alzheimer's disease. *J. Neural. Transm. Suppl.* 57:315-322
48. Morrison-Bogorad M., Zimmerman A.L., Pardue S. (1995) Heat-shock 70 messenger RNA levels in human brain: correlation with agonal fever. *J. Neurochem.* 64:235-246.
49. Kakimura J., Kitamura Y., Takata K., Umeki M., Suzuki S., Shibagaki K., Taniguchi T., Nomura Y., Gebicke-Haerter P.J., Smith M.A., Perry G., Shimohama S. (2002) Microglial activation and amyloid-beta clearance induced by exogenous heat-shock proteins. *FASEB J.* 16:601-603.
50. Calabrese V., Testa G., Ravagna A., Bates T.E., Stella A.M. (2000) HSP70 induction in the brain following ethanol administration in the rat: regulation by glutathione redox state. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 269:397-400.
51. Calabrese V., Bates T.E., Giuffrida Stella A.M. (2000) NO synthase and NO-dependent signal pathways in brain aging and neurodegenerative disorders: the role of oxidant/antioxidant balance. *Neurochem. Res.* 65:1315-1341.
52. Yamawaki H., Haendeler J., Berk B.C. (2003) Thioredoxin: a key regulator of cardiovascular homeostasis. *Circ. Res.* 93:1029-1033.
53. Cho C.G., Kim H.J., Chung S.W., Jung K.J., Shim K.H., Yu B.P., Yodoi J., Chung H.Y. (2003) Modulation of glutathione and thioredoxin systems by calorie restriction during the aging process. *Exp. Gerontol.* 38:539-548.

Analisi comparativa degli enzimi di *Polyporus umbellatus*, *Agaricus blazei*, *Pleurotus osteratus* e *Hericiium erinaceus*.

Cornelius C.¹, Cavallaro M.¹, Cambria M.T.¹ Toscano M.A.² and Calabrese V.¹

¹Dipartimento di Chimica e (2) Dipartimento di Scienze Microbiologiche, Università di Catania, 95100 Catania, Italia. Email: calabres@unict.it

INTRODUZIONE

Gli antiossidanti, presenti naturalmente nella dieta o assunti tramite integratori, sono in grado di contrastare alcuni degli effetti indesiderati di un aumentato stress ossidativo. Anche i funghi eduli contengono una quantità di enzimi che possono agire su molte condizioni cliniche, quali forme tumorali e disordini cardiovascolari.

Già si conosce l'importante ruolo giocato dalla terapia enzimatica in molte condizioni cliniche, quali il trattamento del cancro, linfomi maligni e disordini cardiovascolari^(1,2). L'evidenza sostiene come l'approccio nutrizionale con la biomassa fungina possa rappresentare un nuovo traguardo nelle azioni della medicina preventiva che si basano sulla modulazione dello stato redox endogeno per contrastare le condizioni di stress ossidativo, il principale fattore patogeno all'opera sia nei disturbi dell'invecchiamento e in quelli neurodegenerativi, sia nella promozione e nella progressione maligna delle cellule.

Su questa base, diverse proteine sono state isolate e definite dai funghi, incluse lectine, ribonucleasi, proteine ribosoma-inattivanti, proteine antifungine, laccasi, peptidi ubiquitina-simili, alcune delle quali mostrano di possedere attività inibitoria anti-proliferazione/anti-tumorale, anti-microbica e trascrittasi inversa dell'HIV-1⁽³⁾. Si ritiene che, in molte malattie, gli enzimi contenuti nei funghi più sotto analizzati, possano non solo prevenire lo stress ossidativo ma anche inibire la crescita cellulare.

Alla luce delle recenti scoperte, che mostrano quanto i funghi siano efficaci nel trattamento dello stress ossidativo, abbiamo determinato nelle seguenti varietà: *Polyporus umbellatus*, *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus* e *Hericiium erinaceus*, i livelli di vari enzimi associati all'eliminazione delle ROS (superossido dismutasi, catalasi, perossidasi, GSH-reduttasi, NADPH- citocromo C reduttasi, laccasi) e della tirosinasi..

METODO

Le attività antiossidanti degli enzimi nei funghi selezionati sono state studiate simulando il tratto intestinale umano con i seguenti enzimi proteolitici:

1) **Pepsina** (500 UI/ compressa) a pH 2 per 30 min. a 37°C in incubatore con shaker orbitale.

2) **Tripsina** (500 UI/ compressa) a pH 7.6 per 30 min. a 37°C in incubatore con shaker orbitale

RISULTATI

È stato riscontrato che:

1) i livelli più alti di superossido dismutasi (SOD) (tabella 1, 2) sono stati trovati in *Hericiium erinaceus* e *Pleurotus ostreatus* (rispettivamente, 19,430x10³ U/500 g di biomassa e 13,043x10³ U/500 g di biomassa), seguiti da *Agaricus blazei* (143.5x10³ U/500 g di biomassa) e da *Polyporus umbellatus* (11.8x10³ U/500 g di biomassa). L'incubazione con la pepsina ha indotto una diminuzione da 10 a 20% dell'attività enzimatica, e del 6-10% con la tripsina in tutte le specie esaminate, ad eccezione dell'*Hericiium erinaceus*, dove la diminuzione è stata del 20%.

2) In tutte e quattro le specie è stata evidenziata l'attività del NADPH cit. P450 reduttasi (tabella 1, 2), soprattutto nel *Polyporus umbellatus*, che ha i valori maggiori (10,2 mU/500 g di biomassa), seguito dal *Pleurotus ostreatus* (8,33 mU/500 g di biomassa), dall'*Agaricus blazei* (7,5 mU/500g di biomassa) e dall'*Hericiium erinaceus* (4,62 mU/500 g di biomassa). In presenza di enzimi proteolitici, l'attività enzimatica nell'*Agaricus blazei*, nel *Pleurotus ostreatus* e nell'*Hericiium erinaceus* dopo il trattamento con la pepsina è diminuita del 40%, mentre non sono stati riscontrati cambiamenti nell'attività nel *Polyporus umbellatus*. È interessante notare come, esposto alla tripsina, solo il *Pleurotus ostreatus*, e nessun altro fungo, abbia mostrato una riduzione del 50% nell'attività enzimatica.

Tabella 1. Attività enzimatica (U/500 mg biomassa)

TABELLA 1	<i>Polyporus umbellatus</i>	<i>Agaricus blazei</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Hericiium Erinaceus</i>
Superossido dismutasi (SOD)	11.8 10 ³ U	143.5 10 ³ U	13.043 10 ³ U	19.430 10 ³ U
NADPH Cit. "P-450" reduttasi	10,200 uM	7,500 uM	8,330 uM	4,620 uM
GSH reduttasi	15,4 U	510 U	69.6 U	21.74 U
Catalasi	279.1 U	996.5 U	22.61 U	96.1 U
Laccasi			8.15 U	75.6 U
Tirosinasi	3274 U	6849 U	3717 U	2369 U
Perossidasi			0.68 U	4.77 U

Comparative Enzyme Analysis... (cont)

3) Il glutatione ridotto, noto più semplicemente come glutatione o GSH, è una molecola relativamente piccola e ubiquitaria negli organismi viventi. Significativi livelli di attività della GSH reduttasi sono stati misurati nell'*Agaricus blazei* (510 U/500 g di biomassa), *Pleurotus ostreatus* (69.6 U/500 g di biomassa) e *Hericium erinaceus* (21.74 U/500g di biomassa), con il livello più basso nel *Polyporus umbellatus* (15.4 U/500g di biomassa) (Tabelle 1, 2). Nelle condizioni del tratto intestinale, con la pepsina non è stata registrata una diversa attività nell'*Hericium erinaceus*, mentre una significativa riduzione, del 70-80%, si è avuta con la pepsina in *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus* e *Polyporus umbellatus*. Rispetto agli effetti della tripsina, non è stata misurata alcuna riduzione dell'attività enzimatica nell'*Hericium erinaceus* e nell'*Agaricus blazei*. Il *Polyporus umbellatus* ha mostrato una riduzione del 12% e il *Pleurotus ostreatus* del 34% (tabelle 1, 2).

4) Alta attività di catalasi si è avuta nell'*Agaricus blazei* (996.5 U/500g di biomassa), seguito dal *Polyporus umbellatus* (279.1 U/500g biomassa). Minori livelli di attività enzimatica sono stati misurati nell'*Hericium erinaceus* (96.1 U/500g biomassa) e nel *Pleurotus ostreatus* (22.61 U/500g di biomassa) (tabella 1)

5) Attività di laccasi (tabelle 1, 3) è stata rilevata nell'*Hericium erinaceus* (75.6 U/500g di biomassa) e nel *Pleurotus ostreatus* (8.15 U/500g di biomassa).

6) Negli stessi funghi, l'attività di perossidasi è stata rispettivamente di 4.77U/500g di biomassa e di 0.68 U/500g di biomassa. Al contrario, non sono stati rilevati livelli di attività enzimatica misurabili né nell'*Agaricus blazei* né nel *Polyporus umbellatus*.

7) Livelli facilmente rilevabili di tirosinasi si sono avuti in tutti e quattro

Tabella 2. Attività enzimatica in presenza di enzimi proteolitici (U/500 mg di biomassa)

TABELLA 2	<i>Polyporus umbellatus</i>	<i>Agaricus blazei</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Hericium erinaceus</i>
Superossido dismutasi (SOD)	11.8 10 ³ U	143.5 10 ³ U	13.043 10 ³ U	19.430 10 ³ U
Superossido dismutasi (SOD) + pepsina	10.4 10 ³ U	115.9 10 ³ U	10,671 10 ³ U	17,544 10 ³ U
Superossido dismutasi (SOD) + tripsina	11.1 10 ³ U	128.7 10 ³ U	11,940 10 ³ U	14.961 10 ³ U
NADPH Cit. "P-450" reduttasi	10,200 uM	7,500 Um	8,330 uM	4,620 uM
NADPH Cit. "P-450" reduttasi + pepsina	10,800 uM	4,725 uM	4,957 uM	2,772 uM
NADPH Cit. "P-450" reduttasi + tripsina	11,000 uM	7,510 uM	3,716 uM	5,108 uM
GSH reduttasi	15,4 U	510 U	69.6 U	21.74 U
GSH reduttasi + pepsina	4,3 U	84 U	6.9 U	20.9 U
GSH reduttasi + tripsina	13.55 U	517 U	18.55 U	21.80 U

Tabella 3. ttività enzimatica in presenza di enzimi proteolitici (U/500 mg di biomassa)

TABELLA 3	<i>Polyporus Umbellatus</i>	<i>Agaricus blazei</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Hericium Erinaceus</i>
Laccasi			8.15 U	75.6 U
Laccasi + pepsina			6,99 U	62.48 U
Laccasi + tripsina			8.86 U	78.23 U
Perossidasi			0.68 U	4.77 U
Perossidasi + pepsina			0.57 U	4.32 U
Perossidasi + tripsina			0.61 U	4.08 U

Comparative Enzyme Analysis... (cont)

i funghi, in particolar modo nell'*Agaricus blazei* (6849 U/500g di biomassa). Nel *Pleurotus ostreatus* quest'attività enzimatica è stata di 3717 U/500g di biomassa, di 3274 U/500g di biomassa nel *Polyporus umbellatus* e di 2369 U/500g di biomassa nell'*Hericium erinaceus* (tabella 1).

CONCLUSIONI

Questi studi suggeriscono che importanti enzimi antiossidanti e citoprotettivi siano presenti in tutti i diversi funghi esaminati. Ciò lascia intravedere il considerevole potenziale rivestito dalle strategie terapeutiche basate su interventi nutrizionali con i funghi, per limitare e / o prevenire le condizioni negative che, nelle malattie neurovegetative, si associano al danno provocato dai radicali liberi.

*I campioni di biomassa di *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus*, *Polyporus umbellatus* e *Hericium erinaceus* necessari allo studio sono stati forniti dai Mycology Research Laboratories Ltd. (www.mycologyresearch.com)

Riferimenti Bibliografici:

1. Mockett, R. J., Sohal, R. S., Orr, W. C. (1999) *Overexpression of glutathione reductase extends survival in transgenic Drosophila melanogaster under hyperoxia but not normoxia*. FASEB J. 13, 1733-1742
2. Harhaji Lj., Mijatovi, S, Maksimovi,-Ivani, D, Stojanovi, I, Momcilovi, M, Maksimovi, V, Tufegdzi, S, Marjanovi, Z, Mostarica-Stojkovi, M, Vucini, Z, Stosi,-Grujici, S. *Anti-tumor effect of Coriolus versicolor methanol extract against mouse B16 melanoma cells: in vitro and in vivo study*, (2008) Food Chem Toxicol 46, 1825-1833.
3. Wang HX, Ng TB. (2006) *A laccase from the medicinal mushroom Ganoderma lucidum*. Appl Microbiol Biotechnol. 72, 508-513.

Editor: Tito Fernandes PhD, DSc, Dr HC mult, Dip ECVCN, AAVN (Portugal)
profcattofernandes@gmail.com

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

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



Leader Mondiale in “Mushroom Nutrition”

La Mycology Research Laboratories (MRL) è proprietaria di un vasto campionario di specie di funghi, come pure del processo di coltivazione, per darvi la sicurezza del giusto prodotto micologico finale. La tecnologia del processo di coltivazione è giapponese (ma condotta in California) e assicura una polvere biomass uniforme, libera da ogni contaminazione, secondo “l’Organic Food Act” del 1990 della California.

Il prodotto finale standardizzato (comprese da 500mg) viene lavorato in Olanda secondo la EU organic regulation (EEC2092/91) seguendo gli standard G.M.P. europei. I prodotti sono disponibili in confezioni da 250g biomass o da 90 compresse.

MRL Mycology Research Laboratories Ltd.

Prodotti MRL

Agaricus MRL – <i>Agaricus blazei</i>	Polyporus MRL – <i>Polyporus umbellatus</i>
Auricularia MRL – <i>Auricularia auricular</i>	Poria MRL – <i>Poria cocos</i>
Cordyceps MRL – <i>Cordyceps sinensis</i>	Reishi MRL – <i>Ganoderma lucidum</i>
Coriolus MRL – <i>Coriolus versicolor</i>	Shiitake MRL – <i>Lentinula edodes</i>
Maitake MRL – <i>Grifola frondosa</i>	Triton MRL – <i>Cordyceps, Reishi, Shiitake</i>
Pleurotus MRL – <i>Pleurotus ostreatus</i>	

**Sono prodotti integrali, naturali ed efficaci
DISPONIBILI IN FARMACIA**

ANEID ANEID ITALIA SRL
Importatore e Distributore in Italia
Largo Don Milani, 5
00060 Mazzano Romano
Tel. / Fax 06 90460113
info.aneid@tiscali.it
www.aneiditalia.com

L'integratore *Coriolus versicolor* quale immunonutriente in pazienti HPV con lesioni cervicali (LSIL)



Dr. Jose Silva Couto

Silva Couto, J., Pereira da Silva, D.

Dipartimento di Ginecologia – divisione di Patologia Cervicale, Istituto Portoghese di Oncologia, Coimbra, Portogallo. Email: jsilvacouto@sapo.pt

Durante il XX Congresso Europeo di Ostetricia e Ginecologia sono stati presentati i risultati di una ricerca, durata un anno e portata avanti dai dott. José Silva Couto e Daniel Pereira da Silva, della divisione di Patologia Cervicale, Istituto Portoghese di Oncologia di Coimbra. La ricerca ha esaminato gli effetti dell'assunzione di funghi alimentari in pazienti affetti dal Papilloma virus (HPV), fornendo una promettente serie di risultati e dimostrando, proof of concept, che gli integratori per l'immuno-nutrizione possono essere usati con successo e migliorare lo status HPV dei pazienti.

Il poster presentato ha dettagliato i risultati della valutazione dell'efficacia dell'assunzione di *Coriolus versicolor*, biomassa sotto forma di compresse (500 mg/compressa), in pazienti HPV positivi con lesioni intraepiteliali squamose di basso grado (LSIL). *

Il dott. Silva Couto et al. hanno riscontrato come l'integrazione con *Coriolus versicolor* (3 gr/die) durante un anno abbia accelerato in maniera sostanziale la regressione della displasia (LSIL) e indotto l'eliminazione dei sotto-tipi ad alto rischio del virus HPV, responsabili del carcinoma della cervice uterina..

TABELLA 1	Con il <i>Coriolus versicolor</i>		Senza integratore		Totale
	Negativo dopo 1 anno	Positivo dopo 1 anno	Negativo dopo 1 anno	Positivo dopo 1 anno	
Citologia	13 (72.5%)	5 (27.5%)	10 (47,5%)	11 (52.5%)	39
HPV	9 (91.5%)	1 (10%)	1 (8,5%)	11 (91.5%)	22

Table 1. Percentuale di regressione LSIL e HPV + Nelle lesioni LSIL l'integrazione di *Coriolus versicolor* ha fatto registrare un tasso di remissione del 91,5% nei sotto tipi di HPV classificabili ad alto rischio, dato da confrontarsi con l'8,5% senza l'assunzione di integratore.

Che importanza rivestono questi risultati per i pazienti HPV?

I risultati di questo studio sono incoraggianti e fanno luce sull'efficacia del *Coriolus versicolor* quale utile immuno-nutriente. L'uso di supplementi di *Coriolus* durante un anno ha permesso che il 72,5% di coloro che lo assumevano tornassero ad uno stato citologico normale, contro il 47,5% del gruppo di controllo, che non aveva assunto il supplemento. È incoraggiante il dato che nel 91,5% di coloro che assumevano il *Coriolus* lo status HPV sia regredito rispetto a solo l'8,5% del gruppo di controllo.

La consistenza della pelle nella zona della cervice uterina è tornata normale nel 72,5% dei pazienti che assumevano l'integratore *Coriolus* mentre il carico virale dell'HPV non è stato riscontrato (0) nel 91,5% dei casi. L'impatto dell'integratore *Coriolus* sulla riduzione del carico virale dell'HPV è da considerarsi significativo, considerando che è l'HPV il responsabile delle lesioni della cervice uterina.

Sebbene il campione dello studio sia stato limitato per numero di soggetti, i risultati suggeriscono con forza che l'uso del *Coriolus versicolor* come integratore offre ai medici un utile strumento nutrizionale durante il trattamento dei pazienti HPV (LSIL) di età superiore ai 35 anni o in coloro che hanno un sistema immunitario compromesso.

È anche verosimile che il *Coriolus versicolor* possa risultare efficace in pazienti con HSIL sottoposti ad intervento chirurgico ma che hanno continue lesioni causate da persistente infezione virale HPV e l'eliminazione, o il "controllo", dell'infezione virale è chiave per la cura dei pazienti LSIL e HSIL.

Si è stimato in €52/£41,90 al mese (€1,75/£1,40 al giorno) il costo per assumere il *Coriolus versicolor* con questo protocollo, costo conveniente che non aumenta indebitamente quello della terapia.

L'uso del *Coriolus versicolor* per 1 anno si è rivelato di grande efficacia sia nella regressione della displasia (LSIL) sia nella scomparsa dell'HPV ad alto rischio. Sembra, quindi, trattarsi di un integratore alimentare particolarmente utile e dal positivo impatto terapeutico nella reversione del LSIL (con HPV+ ad alto rischio) e anche in quei pazienti HSIL che, pur essendosi sottoposti a intervento chirurgico, continuano ad avere un'elevata carica virale di HPV ad alto rischio.

Per maggiori informazioni sui meccanismi dell'azione, si veda il Clinical Journal of Mycology, vol 1, www.mycologyresearch.com

* La biomassa di *Coriolus versicolor* necessaria allo studio è stata fornita dai Mycology Research Laboratories Ltd sotto forma di compresse (500 mg/compressa).

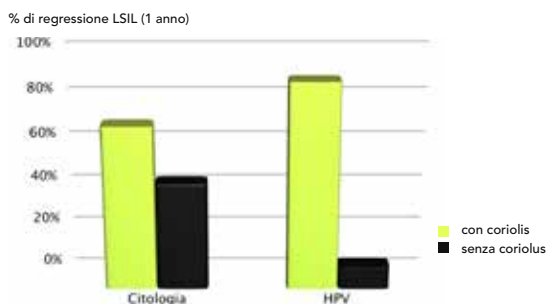


Fig.1 – Percentuale di regressione LSIL e HPV + Nelle lesioni LSIL l'integrazione di *Coriolus versicolor* ha fatto registrare un tasso di remissione del 91,5% nei sotto tipi di HPV classificabili ad alto rischio, dato da confrontarsi con l'8,5% senza l'assunzione di integratore.