

***Grifola frondosa* (Maitake): Su valor nutracéutico, nutricéutico,
farmacéutico y cosmeceúutico. Tecnología de producción**

Dr. Néstor Raúl Curvetto

Bahía Blanca, Agosto de 2009



***Grifola frondosa* (Maitake): Sus valores nutracéutico, nutricéutico y cosmeceúutico. Tecnología de producción**

Contenido

I.	Resumen	4
II.	Los hongos en la historia	5
III.	Valor nutricional de los hongos	7
IV.	Composición nutricional de <i>Grifola frondosa</i>	8
V.	El Reino Mycota (Fungi)	9
VI.	Nombre latino	12
VII.	Nombres populares	12
VIII.	Taxonomía	12
IX.	Distribución geográfica y descripción	13
X.	Cultivo de <i>Grifola frondosa</i>	14
	<i>Selección de cepas</i>	14
	<i>Spawn (semilla de hongo)</i>	15
	<i>Substrato</i>	15
	<i>Manejo de los parámetros de crecimiento</i>	17
	<i>Ciclo de crecimiento</i>	18
	<i>Desarrollo del cuerpo fructífero</i>	18
	<i>Cosecha</i>	19
	<i>Cultivo de micelio en medio líquido</i>	22
XI.	Comercialización	23
XII.	Parte del organismo empleado medicinalmente	23
XIII.	Usos etnomedicinales	24
XIV	Composición micoquímica	24
	<i>Obtención de los polisacáridos de hongos</i>	26

<i>Los polisacáridos del Maitake y su valor medicinal</i>	27
<i>Otros compuestos bioactivos</i>	29
XV. Acciones farmacológicas	30
<i>Aspectos nutracéuticos, nutricéuticos, farmacéuticos y cosmeceúticos</i>	30
<i>Actividad inmunomoduladora</i>	31
<i>Actividad antitumoral</i>	32
<i>Anticarcinogénesis</i>	35
<i>Inhibición de metástasis</i>	35
<i>Sinergia con quimioterapia</i>	35
<i>Estudio de casos con la fracción D</i>	36
<i>La fracción D y la apoptosis de células cancerosas</i>	36
<i>Actividad antimicrobiana (virus y bacterias)</i>	38
<i>Actividad antidiabética</i>	39
<i>Actividad protectora del sistema vascular</i>	40
<i>Colesterol y triglicéridos</i>	41
<i>Presión sanguínea</i>	41
<i>Actividad sobre la obesidad</i>	42
<i>Actividad antioxidante</i>	42
<i>Actividad anti-inflamatoria</i>	43
<i>Actividad en enfermedades hepáticas</i>	44
<i>Actividad en el síndrome metabólico</i>	44
<i>Uso cosmeceútico</i>	45
<i>Otras posibilidades de uso terapéutico de Maitake</i>	46
XVI. Dosificación, formas galénicas y advertencias de uso	46
XVII. Status legal	49
XVIII. Referencias	50

I. RESÚMEN

Los hongos son fuente de alimento y medicina desde tiempos remotos. Se han utilizado para mantener y mejorar la salud, preservar la juventud, y aumentar la longevidad. Son fuente de compuestos bioactivos útiles en el desarrollo de medicinas naturales por su valor nutracéutico, por posibilitar la preparación de nutracéuticos, productos farmacéuticos y en el caso de *Grifola frondosa* (Maitake) proponer su uso como cosmeceútico. Durante los últimos 25 años los estudios realizados con Maitake entero fresco, seco en polvo y otros compuestos del hongo, principalmente poliglicanos, sugieren que este hongo puede jugar un rol beneficioso en el tratamiento de muchas enfermedades, incluidos el cáncer y el SIDA. En efecto, de los 700 hongos comestibles, solo unos 50 tienen valor medicinal y entre ellos *Grifola frondosa* es uno de los más notables e investigado, especialmente como estimulador del sistema inmune y por sus propiedades en la lucha contra el cáncer. Esta monografía presenta una revisión sobre este hongo incluyendo la historia, la taxonomía, los sistemas de cultivo, su valor nutracéutico, la obtención de nutracéuticos y farmacéuticos - particularmente fracciones de polisacáridos gigantes - con sus aplicaciones medicinales y cosmeceúticas.

Observación: *En el texto de esta monografía se usará el término de hongos en forma general para describir a los macromicetos con frutos epígeos o hipógeos. En España, la referencia a los macromicetos comestibles y medicinales - ya sea cultivados o no - se hace con el término setas, pero en Méjico la denominación seta se reserva para los hongos colectivamente denominados ostra (diferentes especies del complejo Pleurotus), mientras que el término anglosajón es “mushrooms”.*



Figura 1. Hongos de piedra. Datan de 1.000 a 400 años AC, y mayormente derivan de la cultura Maya. Fuente: Joel Snow (<http://physics.lunet.edu/~snow/stone.html>).

II. LOS HONGOS EN LA HISTORIA

Los hongos han sido parte de la dieta humana desde tiempos inmemoriales. Se emplearon como alimento y medicina aún antes de que el hombre entendiera el uso de otros organismos. Ellos existían aún antes de la aparición del hombre, como lo demuestran los restos de un hongo hallados en depósitos de principios de la era terciaria. En cuevas del Paleolítico se hallaron pinturas de hongos de carácter religioso que datan del 3.500 AC. Cerca del límite entre Austria e Italia se encontraron restos humanos del 3.300 AC. preservados en hielo, junto con hongos secos de la especie *Piptoporus betulinus*, que posiblemente utilizaban para iniciar fuego y tratar heridas.

Hace 4.600 años, los egipcios los conocían como “las plantas de la inmortalidad” y creían que eran un alimento sólo para la realeza. En Mesoamérica se encontraron unas 400 figuras de piedra representando hongos (Figura 1). Las civilizaciones Maya y Azteca los usaban en rituales religiosos y como medicina. Muchos pueblos antiguos atribuían a los hongos propiedades mágicas tales como proveer fuerza sobre-humana, encontrar objetos perdidos y conducir el alma al plano de los dioses. En la mitología europea antigua, los hongos se asociaban a las estaciones lluviosas y tormentosas y se creía que estaban formados por rayos y tormentas. En la antigua Grecia, una leyenda cuenta que Perseo, cansado y sediento, al llegar a su nuevo reino pudo recuperarse gracias al agua recogida en el sombrero de un hongo, y fundó en ese lugar la ciudad de Miceba (de *mykés*, hongo en griego); es así que la gran civilización micénica recibió su nombre por un hongo. Los antiguos romanos, si bien los denominaron “fungus”, probablemente derivado de *funus ago* o “portador de la muerte”, adoptaron el consumo de hongos en su dieta.

También la micología medicinal encuentra sus raíces en los usos tradicionales de los hongos en la antigua medicina de Oriente. Durante siglos, los cuidadores chinos de la salud

emplearon hongos para tratar diferentes enfermedades. Ellos valoraron el poder de algunos hongos como de origen divino (por ejemplo, una diosa estaba asociada con el Reishi, i.e. *Ganoderma lucidum*, el hongo medicinal por excelencia). Algunos solo podían ser consumidos por los emperadores, quienes creían que otorgaba la inmortalidad. Ciertos hongos fueron usados aún más allá de la medicina: en algunas escuelas de Taoísmo se los usaba como purificadores y promotores de la mente y del espíritu. (Chang y Buswell, 1999).

Hacia finales de los años sesenta tanto los científicos Orientales como los Occidentales comenzaron a investigar los mecanismos por los cuales ciertos hongos tenían efectos positivos sobre la salud. La primera investigación exitosa puso al descubierto los efectos antitumorales de extractos (obtenidos en agua caliente) de varias especies de hongos (Ikekawa y col., 1969). Los componentes activos principales demostraron ser polisacáridos, específicamente β -D-glucanos. Chihara y sus colaboradores (Chihara y col., 1969) aislaron de los cuerpos fructíferos de shiitake (*Lentinula edodes*) un polisacárido antitumoral, soluble en agua que se nombró "lentinan". Éste era un descubrimiento mayor dado que el lentinan demostró una fuerte actividad antitumoral, previniendo el desarrollo de tumores provocados por virus y compuestos químicos en ratones y otros modelos experimentales de estudio (Zakany y col., 1980a; 1980b).

En 1965, en Japón se desarrolló una preparación muy popular y eficaz a partir del hongo *Trametes versicolor* (conocido previamente como *Coriolus versicolor*). Un polisacárido-peptido de este hongo con el nombre de "Krestin" fue aceptado para el uso contra varios tipos de cáncer y fue cubierto por el plan oficial de salud japonés. El Krestin contiene 75% de glucanos y 25% de proteína (Hiroshi y Takeda, 1993). En los años 90, este compuesto significó el 25% de las drogas anticáncer en Japón, con ventas por 350 millones de dólares (Mizuno, 1999a). Un producto similar se desarrolló en China con otra cepa de *Trametes versicolor*, bajo el nombre "peptide" (Rau y col., 2008).

Es así que durante los últimos 20 años, el interés en los aspectos medicinales de los hongos aumentó notablemente como lo demuestra la gran cantidad de estudios científicos realizados por un gran número de grupos de investigación, principalmente de hospitales e instituciones de investigación en Europa, Japón, China y los Estados Unidos, con trabajos en un amplio espectro de diferentes publicaciones. Pero a partir del 2000 aparece una publicación especialmente dedicada al aspecto medicinal de los hongos para contribuir como fuente de información cubriendo diferentes aspectos de esta excitante especialidad. Se trata de *The International Journal of Medicinal Mushrooms* que actualmente va por su volumen 11 (Begell House Inc., <http://www.begellhouse.com/journals/708ae68d64b17c52.html>).

Todos esos años de uso tradicional ya habían suministrado pistas sobre los hongos como fuentes potenciales de medicinas. En la actualidad, usando modernas herramientas analíticas los científicos han aislado e identificado componentes específicos que pueden ya sea destruir o por lo menos debilitar tres de las enfermedades asesinas de la humanidad: el cáncer, las enfermedades del corazón y el SIDA.

III. VALOR NUTRICIONAL DE LOS HONGOS

La proteína es uno de los nutrientes más importantes en la alimentación. Los hongos con un contenido de proteína del 25 al 40% (secos) pueden jugar un papel importante en el enriquecimiento de la dieta humana cuando el suministro de carne es limitado. El contenido de proteína es casi igual al del maíz, la leche, y las legumbres, aunque es más bajo que el de la carne, pescados y huevos (Chang, 1999). Como fuente de proteína en la dieta, los hongos son superiores a la mayoría de las frutas y verduras con la excepción de los porotos, garbanzos y arvejas. Los hongos pueden comerse frescos (en pequeñas cantidades) o cocinados, a diferencia de otras fuentes de proteína como la soja y la levadura que deben ser procesadas o enmascaradas de alguna manera para que sean aceptables al paladar y en el caso de la soja también para inactivar inhibidores de fermentos digestivos (Wallace, 1971).

Los hongos también contienen todos los aminoácidos esenciales así como las amidas y los aminoácidos no esenciales más comunes. La lisina, cuyo contenido es bajo en la mayoría de los cereales, es el aminoácido más importante en los hongos. La proteína de los hongos es por ello un importante aporte a la dieta humana.

Aunque desprovistos de vitamina A, los hongos son altos en vitaminas C, D y ergosterol, una pro vitamina D (Koyyalamudi y col., 2009). Los hongos son los únicos alimentos de origen no animal que pueden proveer vitamina D, lo cual es bueno para vegetarianos estrictos. El ergosterol bajo la acción de la luz UV se transforma en vitamina D₂ (Feeney, 2006).

También contienen vitaminas B: riboflavina, niacina, tiamina, ácido fólico, ácido pantoténico y cianocobalamina. Está última, la vitamina B₁₂, sólo se encuentra normalmente en productos animales. El contenido en niacina (anti-pelagra) es casi equivalente a los niveles encontrados en la carne de cerdo que se considera la fuente más rica de esta vitamina. Los hongos también son una buena fuente de minerales como calcio, potasio, sodio y fósforo además del ácido fólico, un ingrediente que enriquece el torrente sanguíneo y previene deficiencias. El hierro también está presente en los hongos en una cantidad apreciable y junto con el fósforo, puede proporcionar una buena parte de las necesidades dietéticas diarias

recomendadas. Los hongos son bajos en sodio, haciéndolos ideal para las personas con ciertos tipos de enfermedades del corazón y del riñón.

IV. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE *Grifola frondosa*

En la Tabla 1 se muestra la composición general (A) del fruto fresco de *Grifola frondosa* y la composición por categorías (B): macronutrientes y cenizas, lípidos, vitaminas, minerales, carotenoides y misceláneos.

Tabla 1. La porción de 100 g de *Grifola frondosa* (Maitake) crudo puede contener los componentes siguientes (por orden alfabético):

A. COMPOSICIÓN GENERAL

Ácido Ascórbico (vit. C):	0.0 mg	Manganeso (Mn):	0.059 mg
Cenizas:	0.53 g	Niacina:	6.585 mg
Calcio (Ca):	1 mg	Ácido Pantoténico :	0.270 mg
Carbohidrato:	6.81 g	Fósforo (P):	74 mg
α -Caroteno: :	0 μ g	Potasio(K):	204 mg
β -Caroteno:	0 μ g	Proteína:	1.94 g
Colesterol:	0 mg	Piridoxina (vitamina B6):	0.1 mg
Colina, total:		Residuo (%):	0.0%.
Cobre (Cu):	0.252 mg	Retinol, μ g (vitamina A):	0 μ g
β -Criptoxantina:	0.00 μ g	Selenio (Se):	2.2 μ g
Energía, alimento (kcal):	37 kcal	Sodio (Na):	1 mg
Energía, alimento (kJ):	155 kJ	Azúcares, total:	2.07 g
Ácidos grasos, (AGMI):	0.030 g	Tiamina (vitamina B1):	0.146 mg
Ácidos grasos (AGPI):	0.090 g	Vitamina A, IU:	0 IU
Ácidos grasos, (AGS):	0.030 g	Vitamina A (μ gRAE):	0 μ gRAE
Fibra dietaria, total:	2.7 g	Vitamina A, μ g (retinol):	0 μ g
Folato:	29.00 μ g	Vitamina B1 (tiamina):	0.146 mg
Folato (total):	29 μ g	Vitamina B12:	0.00 μ g
Folato, alimento:	29 μ g	Vitamina B2 (riboflavina):	0.242 mg
Ácido Fólico:	0.000 μ g	Vitamina B6 (piridoxina):	0.1 mg
Hierro(Fe):	0.30 mg	Vit. C (ácido ascórbico):	0.0 mg
Lípido, total:	0.19 g	Vitamina E (α -tocoferol):	0.00 μ g
Luteína+Zeaxantina:	0.0 μ g	Vitamina K:	0.0 μ g
Licopeno:	0.01 μ g	Agua:	90.53 g
Magnesio (Mg):	10 mg	Zinc (Zn):	0.75 mg

B. COMPOSICIÓN POR CATEGORÍA

Macronutrientes y Cenizas

Agua:	90.53 g	Proteína:	1.94 g
Carbohidrato:	6.81 g	Lípido, total:	0.19 g
Cenizas:	0.53 g		

Lípidos

Lípidos, total:	0.19 g	Colesterol:	0 mg
Ácidos grasos (AGPI):	0.090 g	Ácidos grasos, (AGMI):	0.030 g
Ácidos grasos, (AGS):	0.030 g		

Vitaminas

Vitaminas liposolubles

Vitamina A, IU:	0 IU	Vitamina K (filoloquinona):	0.0 μ g
-----------------	------	-----------------------------	-------------

Vitamina E (α -tocoferol):	0.00 μ g	Vitamina A (μ gRAE):	0 μ gRAE
Vitamina A, μ g (retinol):	0 μ g		
Vitaminas hidrosolubles			
Vitamina B1 (tiamina):	0.146 mg	Folato (total):	29 μ g
Vitamina B2 (riboflavina):	0.242 mg	Folato :	29.00 μ g
Vitamina B6 (pyridoxina):	0.1 mg	Ácido Fólico:	0.000 μ g
Vitamina B12:	0.00 μ g	Niacina:	6.585 mg
Folato, alimento:	29 μ g	Vitamina C (Ácido ascórbico):	0.0 mg
Ácido Pantoténico:	0.270 mg		
Minerales			
Calcio (Ca):	1 mg	Fósforo (P):	74 mg
Cobre (Cu):	0.252 mg	Potasio (K):	204 mg
Hierro (Fe):	0.30 mg	Sodio (Na):	1 mg
Magnesio (Mg):	10 mg	Selenio (Se):	2.2 μ g
Manganeso (Mn):	0.059 mg	Cinc (Zn):	0.75 mg
Carotenoides			
α -Caroteno: :	0 μ g	Licopeno:	0.01 μ g
β -Caroteno:	0 μ g	Luteína+Zeaxantina:	0.0 μ g
β -Criptoxantina:	0.00 μ g		
Misceláneos			
Colina, total:		Fibra, total dietaria:	2.7 g
Energía, alimento (kJ):	155 kJ	Residuos (%):	0.0%.
Energía, alimento (kcal):	37 kcal	Azúcares, total:	2.07 g

AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos mono-insaturados; AGPI: ácidos grasos poli-insaturados; RAE: retinol actividad equivalente, usado para medir vitamina A, en μ g/100g (Fuente: MedRat® NutriArchives: <http://medrat.com/nutrition/sr20/>)

V. EL REINO MYCOTA (FUNGI)

La Micología se ocupa del estudio de los hongos. El término deriva de la palabra griega *mykes* que significa hongo. Hasta no hace mucho tiempo los hongos se consideraban como miembros del Reino Plantae pero se reconocen como un grupo muy distinto y separado de organismos que ahora forman el Reino Fungi (Tabla 1), debido a las características únicas que los diferencia de los animales y las plantas. Son eucariotas que tienen núcleos con varios cromosomas bien definidos y, como tal, claramente diferenciados de las bacterias. Son heterotróficos y requieren compuestos orgánicos carbonados complejos que los distinguen de las plantas, autótrofas, que elaboran sus propios compuestos orgánicos mediante la fotosíntesis. Todos excepto unos pocos hongos tienen paredes celulares bien definidas a través de las cuales todos los nutrientes deben pasar en forma soluble y, en este aspecto, ellos difieren de las células animales cuyas células carecen de una pared celular definida. Asimismo, los hongos poseen glicógeno, un polisacárido de reserva también presente en animales, mientras que el equivalente en plantas es el almidón.

El número de especies de hongos es una cuestión de especulación pero las estimaciones sugieren que pueden superar el millón y medio (Hawksworth, 1991).

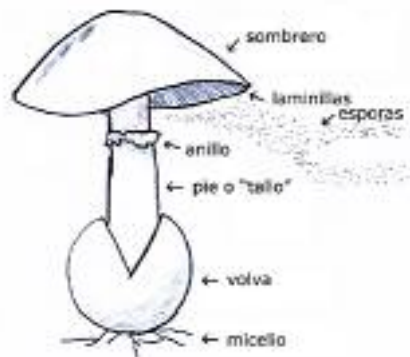
Los hongos muestran inmensas diferencias en tamaño, estructura y actividades metabólicas. Los más pequeños, como las levaduras, crecen como agregados sueltos de células microscópicas mientras que la mayoría de los hongos existen como filamentos microscópicos o hifas que se extienden, se ramifican y funden (anastomosis) para formar un micelio complejo o red. A medida que esta red micelial aumenta de tamaño se vuelve visible al ojo y en algunos casos llegan a formar estructuras grandes y complejas que son los cuerpos fructíferos conocidos familiarmente como setas u hongos. Mientras muchas especies de hongos crecen y funcionan en ambientes acuosos, la inmensa mayoría, por la naturaleza de su modo de crecimiento apical, crece mejor sobre sustratos sólidos, sobre todo en ambientes terrestres.

Los hongos actúan en el suelo degradando la materia orgánica muerta -hongos de la pudrición blanca y marrón de la madera- pero también pueden crecer sobre plantas, animales y seres humanos causando decaimiento y enfermedad. Muchos hongos atacan productos manufacturados de todo tipo incluyendo comestibles, tejidos, cuero, madera, cosméticos, farmacéuticos, etc., y por otro lado, otros hacen una gran contribución biotecnológica en la producción de bebidas alcohólicas, productos alimenticios fermentados (como los quesos), antibióticos, y otros compuestos medicinales importantes.

La mayoría de las especies de hongos comestibles y/o medicinales se encuentran dentro de los Basidiomicetos o Ascomicetos, ambos *phyla* (divisiones) dentro del Reino Fungi (Tabla 2). En ambas hay un proceso de reproducción sexual que ocurre originalmente en la fase micelial subterránea o sobre leños y se manifiesta finalmente en los grandes cuerpos carnosos que surgen sobre la tierra (Figura 2).

Tabla 2. Reino Fungi

Ascomicota	Ascas (estructuras productoras de esporas en forma de saco) (desde levaduras a hongos de sombrero grandes)
Basidiomicota	Hongos superiores (seta, bejín o bolas de tierra, hongos en forma de repisa)
Zigomicota	Mohos, hongos micorriza o micorrízicos y descomponedores de suelo
Chitridiomicota	Hongos primitivos, chitridos
Deuteromicota	Hongos de reproducción asexual

Figura 2. Cuerpo fructífero

Los hongos se reproducen por esporas (equivalentes a las semillas en plantas). Bajo condiciones propicias, las esporas germinan y forman hifas (colectivamente llamadas micelio). El micelio es filamentoso y generalmente no puede ser visto a simple vista. La espora germinada forma el micelio primario, y más tarde el micelio secundario por plasmogamia (fusión de hifas del micelio primario). El micelio acumula nutrientes del sustrato (equivalente al suelo para las plantas) y lo coloniza. Cuando la masa micelial es estimulada por cierta temperatura, humedad, etc., forma primordios que desarrollan en cuerpos fructíferos (equivalentes a los frutos en las plantas). Los cuerpos fructíferos en las primeras etapas de desarrollo son llamados primordios (equivalente a yemas en plantas). Los primordios se diferencian en sombreros y tallos formando los cuerpos fructíferos. En los basidiomicetos, cerrando el ciclo biológico, las esporas se producen en las laminillas (Figura 2) localizadas debajo del sombrero. Los cuerpos fructíferos liberan esporas para producir la generación siguiente en ambientes propicios.

El ciclo de vida de los hongos está dividido en dos fases: el crecimiento vegetativo con suficiencia de nutrientes (tropofase) y el reproductivo (idiofase). El crecimiento vegetativo involucra un crecimiento lineal del micelio que ocurre disolviendo componentes complejos del sustrato en moléculas más simples para absorberlas como nutrientes. Cuando se dan condiciones de insuficiencia de nutrientes, baja temperatura, humedad alta, mucho oxígeno, y en algunos casos presencia de luz, el micelio cesa su crecimiento vegetativo y comienza a producir cuerpos fructíferos (crecimiento reproductivo), los cuales conocemos como “hongos” (estructura reproductora). El cultivo de hongos puede considerarse como la

práctica de obtener cuerpos fructíferos mediante la reproducción artificial de estas dos fases de crecimiento.

VI. NOMBRE LATINO

Grifola frondosa

El nombre científico deriva del nombre común de un hongo en Italia y se refiere a una bestia mítica mitad león y mitad águila.

VII. NOMBRES POPULARES

En inglés se lo llama *hen of the woods* (gallina de los bosques) y *sheep's head* (cabeza de oveja). El nombre común más conocido, y utilizado en su comercialización es el vocablo japonés “Maitake”, que se traduce como “hongo danzante u hongo de la danza”. También se lo llama “rey de los hongos” por su gran tamaño y los beneficios asombrosos que aporta a la salud.

VIII. TAXONOMÍA

Grifola frondosa (Dicks: Fr.) S.F. Gray (Gray, 1821) se conoció en un principio como *Boletus frondosus* (Dicks.) (Dickson, 1785) y posteriormente fue descrita como *Polyporus frondosus* (Dicks.: Fr.) (Fries, 1821). Aunque se acepta generalmente a *G. frondosa* como perteneciente a la familia Polyporaceae (Corner, 1989; Shen, 2001) también se la ha ubicado en la familia Coriolaceae (Hawksworth y col., 1995), Grifolaceae (Jülich, 1981), y últimamente en Schizophyllaceae en la base de datos taxonómica del National Center for Biotechnology Information (Centro Nacional de Información Biotecnológica) (GenBank®, Sept.7 2001). Al nivel de especies Gilbertson y Ryvardeen (1987), Farr y col. (1989) y Zhao y Zhang (1992) reconocen a *G. frondosa* como la única especie de *Grifola*. Otros especialistas consideran que hay varias especies en el género tales como *G. albicans* sp. nov. (Corner, 1989), *G. armeniaca* sp. nov. (Corner, 1989), *G. badia* (Gray, 1821), *G. campyla* (Cunningham, 1965), *G. cristata* (Gray, 1821), *G. eos* nov. (Corner, 1989), *G. gargal* (Singer, 1969), *G. gigantea* (Mizuno y Zhuang, 1995), *G. lucida* (Gray, 1821), *G. platypora* (Gray, 1821), *G. sordulenta* (Singer, 1969), *G. umbellata* (Donk, 1974; Corner, 1989; Mizuno y Zhuang, 1995), y *G. varia* (Gray, 1821; Shen, 2001).

En los bosques andino-patagónicos de Argentina y Chile se han encontrado *Grifola gargal* (Figura 3) y *G. sordulenta* creciendo sobre árboles de coihue (*Nothofagus dombeii*, *G. sordulenta*) y roble (*N. obliqua*, *G. gargal*), especies que son apreciadas como alimento por

las poblaciones nativas y cuyas propiedades medicinales aún no han sido estudiadas (Rajchenberg, 2002).



Figura 3. *Grifola gargal* (Parque Nacional Lanín, 40° 08' S, 71° 39' W. Argentina, Mayo 2009. Foto cortesía del Lic. Pablo Postemsky)

IX. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y DESCRIPCIÓN

Los hongos Maitake crecen naturalmente en las montañas de Japón nororiental y en las Montañas Rocallosas de los Estados Unidos (Figura 4). Tienen un cuerpo fructífero muy grande, que llega a pesar 45 kg y medir 40 cm. Se lo reconoce fácilmente debido a su color blanco a gris-castaño, de numerosos sombreros ondulados que se organizan en racimos grandes de rosetones. La superficie de los poros es blanca amarillenta y continúa hacia el sistema del tallo. Las ramas del tallo son lisas, blancas, y duras. El Maitake normalmente se encuentra cerca de las bases de tocones de madera dura y en troncos en descomposición, especialmente robles y coníferas.



Figura 4. *Grifola frondosa* (Foto de Travis Kotke, Michigan, 2005. http://morelmushroomhunting.com/grifola_frondosa.htm)

X. CULTIVO DE *Grifola frondosa*

El cultivo artificial de *G. frondosa* comenzó en Japón en la década del 80, y posteriormente en China y los Estados Unidos.

El cultivo de los hongos en general requiere un gran conocimiento de su situación eco-fisiológica en la naturaleza, la cual permite el establecimiento de las condiciones de crecimiento óptimo para cada especie y orienta acerca de la manera de crear un ambiente favorable para el crecimiento vegetativo y reproductivo de los mismos. Hallar las condiciones óptimas en la producción de micelio y cuerpos fructíferos es un paso fundamental para la producción optimizada de los compuestos con valor nutricional, nutracéutico, farmacológico y cosmeceútico presentes en este hongo.

Selección de cepas

Como en todos los casos de producción de un hongo con determinados atributos, también en Maitake es crucial la selección de cepas antes de iniciar la producción. Un porcentaje alto de cepas de *Grifola frondosa*, ya sea aisladas de ambientes naturales u obtenidas en bancos de germoplasma, no fructifica bien (Stamets, 1993; Huang, 1997). Existen diferencias

considerables entre cepas en la velocidad de crecimiento, rendimiento, requerimientos de temperatura, y características del cuerpo fructífero, como color y forma de los sombreros. Es esencial realizar pruebas de las cepas nuevas antes de iniciar su producción.

Las cepas se mantienen puras en un medio nutritivo especial. Y a partir de ellas se produce el *spawn* o semilla de hongos, que posteriormente se usará para “sembrar”, i.e. inocular el sustrato para la producción del hongo.

Spawn (semilla de hongo)

El *spawn* está formado por el micelio del hongo creciendo vigorosamente - fase vegetativa - en un sustrato especial que puede ser un medio nutritivo líquido, granos (de trigo, centeno, mijo, arroz, maíz) o aserrín, entre otros (Stamets y Chilton, 1983)

Substrato

Debido a su naturaleza aeróbica y su gran tamaño, el Maitake requiere mucho oxígeno para crecer. Generalmente se usa, para proporcionar un buen intercambio de aire y como ingrediente basal de un sustrato, una mezcla de aserrín de madera dura, fina y gruesa, (Huang, 1997), o una mezcla de aserrín de madera dura y viruta (Stamets, 1993). Puesto que se trata de un descomponedor primario, no es necesario compostar el sustrato, es decir adecuarlo previamente para hacer más disponible la nutrición orgánica. A fin de bajar la tasa de contaminación por microorganismos competidores, el sustrato debe decontaminarse apropiadamente, generalmente utilizando vapor de agua, i.e. pasteurización, y si el medio está enriquecido es necesario realizar una esterilización del sustrato por autoclavado. El sustrato decontaminado/esterilizado se coloca en bolsas, y es empaquetado adecuadamente en un bloque que simula al leño en la naturaleza, para formar los “troncos sintéticos”. Las bolsas tienen parches con microfiltros o se cierran con un tapón de algodón en la parte superior a fin de mantener la necesaria aireación para soportar el metabolismo respiratorio.

Formulación del sustrato. El ingrediente basal, aserrín de madera dura, por ejemplo de roble (mezcla de fino y grueso) o bien aserrín y virutas, normalmente constituye hasta el 75-80% de la fórmula del sustrato en seco. El ingrediente basal puede incorporar en su mezcla otros residuos lignocelulósicos como por ejemplo cáscaras de semilla de algodón (25%) y también una proporción de sustrato gastado (20%). El ingrediente basal se suplementa con salvado del trigo (grueso), sacarosa (azúcar común), cal y a veces suelo con alto contenido de materia orgánica. El salvado de trigo es una fuente de tiamina (vitamina B1), y es esencial para la formación del cuerpo fructífero, mientras que el calcio contribuye a la diferenciación

de los mismos. El agregado de suelo rico en humus - material orgánico derivado de restos de plantas, microorganismos y animales - en proceso de biotransformación sirve para mejorar el crecimiento del hongo.

A continuación se presentan ejemplos de fórmulas de sustratos para el cultivo de Maitake. Mayor información se encuentra en Chalmers (1994), Chiu y col. (1998), Huang (1987, 1993, 1997), Kirchhoff (1996), Lee (1994, 1996), Royse y Guardino (1997), y Stamets (1993). Una guía práctica para el cultivo de Maitake se puede encontrar en www.unicornbag.com/cultivation/grfr/chen.shtml (Chen, 1998).

Substrato 1

Aserrín de madera dura (mezcla de fina y gruesa 3:1) 75%

Salvado del trigo (grueso) 23%

Azúcar (sacarosa) 1%

Sales de calcio: cal ($\text{CaCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) o yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1%

H_2O (contenido de humedad) 60-63%

pH 5,5-6,5

Substrato 2

Aserrín de madera dura (mezcla de fina y gruesa 3:1) 65%

Suelo rico en humus, 15% peso seco

Salvado del trigo (grueso) 18%

Cal ($\text{CaCO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 1%

Azúcar 1%

H_2O (contenido de humedad) 60-63%

pH 5,5-6,5

Substrato 3

Aserrín de madera dura, fina 40%, gruesa 20%

Substrato gastado, 20% peso seco

Suelo rico en humus, 10% peso seco

Salvado del trigo (grueso) 10 %

H_2O (contenido de humedad) 60-63%

pH 5,5-6,5

Manejo de los parámetros de crecimiento

Se dan varias estrategias de manejo a modo de referencia. Especialmente se debe tener en cuenta un conjunto de factores que inciden en cada fase del crecimiento del hongo y por lo cual se requiere su ajuste a fin de optimizarlo (Tabla 3). Se debe prestar mucha atención al control de la temperatura, la humedad relativa, luz y el intercambio de aire, esto es la ventilación que se realiza en la nave de crecimiento y fructificación (en términos de O₂ vs CO₂, ajustado por un número determinado de cambios del aire del volumen de la nave de fructificación, por día). Por ejemplo, la temperatura para el desarrollo de los cuerpos fructíferos es más baja que la requerida para el crecimiento vegetativo del micelio en el sustrato (corrida del micelio, *spawn running*) y a veces para la iniciación de primordios (que es específica de cada cepa); la intensidad de luz es más alta, y la humedad relativa del aire también es alta. Se debe minimizar la fluctuación de la temperatura para evitar la condensación porque un exceso de agua sobre los frutos puede promover la aparición de pestes bacterianas y fúngicas (Alice Chen: www.unicornbag.com/cultivation/grfr/chen.shtml).

En China y Japón, la corrida del micelio, la iniciación de primordios y el desarrollo de los cuerpos fructíferos se lleva a cabo en dos cuartos diferentes. En el caso de *G. frondosa*, los primordios se forman inicialmente en la bolsa cerrada, mientras el cuerpo fructífero se forma en la bolsa con la parte superior abierta. Después que los troncos sintéticos totalmente colonizados por el micelio forman una cobertura, se induce la formación de primordios por exposición a baja temperatura por un día. Luego de algunos días bajo las nuevas condiciones ambientales para la fructificación se retiran los tapones de algodón e incluso se hace tajos en la parte superior de las bolsas para posibilitar un mayor acceso de oxígeno, exposición a una concentración de CO₂ más baja y alta humedad. Algunos cultivadores también hacen agujeros en el fondo de la bolsa para drenaje, aunque debería evitarse el exceso de líquido desde el comienzo del cultivo porque al crearse un ambiente anaeróbico se promueve el crecimiento de microorganismos competidores.

Cuando se evalúan diferentes planes de manejo técnico del cultivo, se deben tener en cuenta las diferencias entre cepas (velocidad de crecimiento, rendimiento, temperatura óptima), los sustratos (composición y tamaño de partícula), las bolsas (diseño, tamaño, características del dispositivo para intercambio gaseoso: microfiltro, algodón), el *spawn* (calidad, tamaño y distribución), y la disposición de los troncos sintéticos en el cuarto. Así, por ejemplo Stamets (1993) proporciona para una cepa de *G. frondosa*, los parámetros que deben ajustarse durante el cultivo para su optimización (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros de cultivo para la producción de Maitake

	Corrida de spawn	Formación de primordios	Primeras fases de la formación de frutos	Desarrollo de frutos
Temperatura de incubación (°C)	21-24	10-15,6	10-15,6	13-18
Humedad relativa (%)	95-100	95	95	85-90
Duración (días)	14-30	5-10	10-14	14-21
CO₂ (ppm)	20.000-40.000	2.000-5.000	2.000-5.000	< 1.000
Cambios de aire	0-1	4-8	4-8	4-8
Luz (lux)	---	100-500	100-500	500-1000

(Fuente: Stamets, 1993)

Ciclo de crecimiento

Son tres etapas: corrida del micelio, iniciación de primordios y desarrollo de los cuerpos fructíferos. El proceso de crecimiento (y diferenciación) es continuo. Cada fase se une con la siguiente. La corrida del *spawn* es la fase del crecimiento vegetativa del micelio que lleva a la iniciación de los primordios. En *Grifola frondosa*, el período hasta la colonización completa del sustrato se extiende a 30 días e inclusive llega a durar 45 días. Aunque el micelio puede crecer en ausencia de luz, un nivel muy bajo de intensidad de luz continua (50 lux) a lo largo del periodo de colonización facilita la iniciación de los primordios (Wu y col., 1997). Al finalizar la corrida del micelio hay un periodo de maduración de las actividades metabólicas que llevan a la iniciación de los primordios a mayor intensidad de luz (200 lux), más oxígeno y alta humedad dentro de la bolsa cerrada.

Desarrollo del cuerpo fructífero

Este pasa por varios estadios sucesivos con morfología característica, a saber: a) primordio b) “cerebro” c) “coliflor” y d) fruto maduro o “racimo” (Figura 5).

Fase de primordio. Los primordios constituyen una masa amorfa gris oscura en la superficie del micelio desarrollado en las bolsas con ventilación, que luego se convierten en los primordios globulares, punteado con un exudado amarillo claro.

Fase de cerebro. A medida que crece el primordio negro grisáceo, los pliegues enroscados aparecen en la superficie, semejando las circunvoluciones con la apariencia de un cerebro.

Fase de coliflor. Continúa el crecimiento y se despliegan los pliegues enroscados en la superficie del primordio y se solapan en sombreros jóvenes formados en un apretado racimo. Esto es seguido por el alargamiento de los “tallos” laterales, cada uno con un sombrero en la porción superior. Los tallos presentan numerosas ramas que comparten una base corta y ancha. Esta fase luce como un coliflor cuando el color del cuerpo fructífero se aclara hasta casi blanco.

Fase de racimo. El hongo continúa creciendo y se desarrollan sombreros que se solapan en forma de racimos sobre los tallos elongados creando la fase de racimo. El color del hongo se aclara progresivamente. Dependiendo de las cepas, los hongos Maitake son gris claro, blanco grisáceo, amarillo parduzco claro, etc.

Cosecha

Los Maitake se cosechan cuando el racimo de los cuerpos fructíferos está totalmente formado, con los sombreros desplegados en un 80% y con los márgenes doblados ligeramente hacia adentro (Figuras 6 y 7). Un día antes de la cosecha se detiene la humidificación para prevenir la contaminación con bacterias por exceso de humedad. Los frutos grandes y frágiles se deben retirar con mucho cuidado: con una mano se toma la base y se sostiene el racimo y con la otra se corta en la base engrosada usando un cuchillo afilado. Se rota el racimo con cuidado y se tira hacia arriba si es necesario. Luego se corta la parte gruesa de la base y se retiran los residuos de sustrato. Se recomienda envolver los frutos en un papel suave y almacenarlos a una temperatura de 2 C. La vida de mostrador es de unas 2 semanas.

El rendimiento de cosecha es bajo, entre 0,5 y 1 kg por bolsa de 6 kg de sustrato húmedo, lo cual asumiendo un contenido de agua del 60% representa entre el 20 y el 40% en términos de eficiencia biológica {EB %: (Kg hongo fresco/Kg de sustrato seco al tiempo de *spawning*) x100}.

En cuanto a la calidad, las fructificaciones de Maitake se han clasificado por calidad de 1 a 4 mediante la observación de la forma y color del basidioma (Shen y Royse, 2002) como sigue: 1, basidiomas con color negro a gris oscuro, frutos uniformes y no deformes; 2, basidiomas con color gris a gris claro y frutos mayormente uniformes; 3, basidiomas con más de la mitad de los frutos deformes; 4, basidiomas con frutos deformes, inmaduros y no desarrollados.

Figura 5. Fases en el desarrollo de *Grifola frondosa* en cultivo



Fuente: K. Stott y C. Mohammed, Specialty Mushroom Production Systems: Maitake and Morels. 2004. Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC), Australia. Publication No 04/024. Project No. UT-30A

Figura 6. Fruto maduro listo para cosechar



Fuente: K. Stott y C. Mohammed, Specialty Mushroom Production Systems: Maitake and Morels. 2004. Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC), Australia. Publication No 04/024. Project No. UT-30A

Grifola frondosa también puede cultivarse en sustratos diferentes como se ha podido demostrar usando un sustrato a base de cáscara de semilla de girasol (Figura 7), un residuo muy abundante de la industria de aceite comestible (Curvetto y col., resultados no publicados).

Figura 7. Fruto de *Grifola frondosa* cultivado sobre un sustrato a base de cáscara de girasol



(Foto del autor)

Cultivo de micelio en medio líquido

Para obtener compuestos del metabolismo secundario con bioactividad, e.g. polisacáridos de los hongos medicinales, muchos investigadores han buscado optimizar su producción sobre medios artificiales sólidos para producir los cuerpos fructíferos, cultivo que se denomina de fermentación en fase sólida.

Otra posibilidad que se ha investigado es el cultivo de micelio en medio nutritivo líquido, para obtener biomasa de micelio, y/o sus polisacáridos y exopolisacáridos (EPS) secretados al medio. La ventaja del cultivo líquido es el potencial de obtener una mayor producción de micelio en un espacio compacto y en menor tiempo y con menos oportunidad de contaminación (Bae y col., 2001; Kim y col., 2002; Park y col., 2001; 2002), aunque el cultivo en fermentación en estado sólido aún puede llegar a resultar más conveniente desde el punto de vista del costo/beneficio.

Actualmente los requerimientos nutricionales y las condiciones ambientales sólo se han establecido para el cultivo líquido de unos pocos hongos (Bae y col., 2000; Sinha y col., 2001; Fang y Zhong, 2002). Lee y colaboradores (2004) establecieron un protocolo de producción de masa micelial y de exopolisacáridos en cultivo sumergido para *Grifola frondosa*.

Determinaron que la temperatura óptima y el pH iniciales para el crecimiento del micelio y la producción de EPS en medio líquido bajo agitación eran de 25C y 5,5, respectivamente. La glucosa (30 g/L) fue la fuente de carbono más conveniente y la levadura y la peptona fueron las fuentes de nitrógeno de elección. Los parámetros operacionales óptimos para un fermentador (tanque de 5 L) fueron: pH, 5,06; velocidad de aeración, 1,16 vvm y velocidad de agitación, 166 rpm. La morfología más deseable del micelio para la producción de EPS en cultivo líquido no fue la del tipo compacto sino más bien suelto. En estas condiciones óptimas de cultivo, los valores máximos de biomasa y de concentración de EPS obtenidos fueron de 16,8 y 5,3 g/L, respectivamente

XI. COMERCIALIZACIÓN

En el 2000 la producción mundial de este hongo fue de alrededor de 40.000 ton. En EEUU se vende el hongo fresco para un mercado gourmet a 60 dólares el kg y a 5-6 dólares los 150 g de hongo seco (everythingmushrooms.com/shop). Como suplemento medicinal se procesa en seco y se vende en cápsulas y también como té.

A principios de los 80, se comenzó a comercializar un suplemento dietario. Se trata del producto denominado Grifron®-Pro ó D-fraction®

(http://www.betterlife.com/prod_home_page.asp?prod_id=487&source=infgoogle) que es un

extracto del cuerpo fructífero de Maitake altamente purificado y estandarizado de beta-1,6 glucano (cadena principal 1,6 con ramificaciones 1,3 en su estructura química) y beta-1,3 glucano (cadena principal 1,3 con ramificaciones 1,6) con alrededor de 30% de proteína. Esta fracción D contiene un polisacárido singular. En efecto, el grado de ramificación es mayor que el de otros 1,3 beta-glucanos encontrados en otros hongos medicinales. Se ha argumentado que esta mayor complejidad de ramificación puede hacer al Maitake superior a otros productos con beta-glucanos. Un hecho sobresaliente sobre esta fracción D de Maitake es que es eficaz administrada oralmente, mientras que no lo es en el caso de otros polisacáridos gigantes de otros hongos medicinales (Mayell, 2001).

Los usos medicinales están en aumento a medida que las investigaciones confirman sus propiedades y así crece su buena reputación.

XII. PARTE DEL ORGANISMO EMPLEADO MEDICINALMENTE

Como se mencionara precedentemente, tanto los cuerpos fructíferos como el micelio obtenido por fermentación sumergida en cultivo líquido tienen aplicaciones medicinales (Lieberman y Babal, 1997; Mayell, 2001).

XIII. USOS ETNOMEDICINALES

Por siglos los hongos comestibles se han usado para mejorar ciertas condiciones de salud, incluyendo el cáncer, la diabetes, las infecciones virales y bacteriales (Wasser y Weis, 1999; Hawksworth, 2001; Cui y Chisti, 2003; Lindequist y col., 2005; Schepetkin y Quinn, 2006)

En la medicina china tradicional se lo usaba para mejorar las enfermedades del bazo y del estómago, tranquilizar los nervios y tratar hemorroides (Smith y col., 2002). La historia cuenta que el Maitake era tan apreciado que se intercambiaba por el mismo valor en peso que la plata. Algunos refieren que este nombre (hongo danzante, hongo de la danza) se debe a que quienes encontraban este hongo en las montañas danzaban con alegría porque conocían sus beneficios para la salud.

En el noreste de Japón, los hongos Maitake crecen silvestres en los bosques. Por cientos de años la tradición herbolaria japonesa hizo uso de este hongo como un tónico y adaptógeno (según los herbalistas este término define sustancias que aumentan la resistencia del cuerpo al estrés, el trauma y la ansiedad por su habilidad de balancear el sistema endócrino hormonal y el inmune, ayudando al cuerpo a mantener una homeostasis óptima y el resultado es mayor bienestar, vitalidad, fuerza y vigor). Por ello, junto con otros hongos de excelente reputación

medicinal como son el Shiitake y el Reishi, el Maitake fue usado como un alimento que promovía el bienestar y la vitalidad.

XIV. COMPOSICIÓN MICOQUÍMICA

Un común denominador entre algunos hongos y algunas hierbas vegetales es la presencia de polisacáridos de estructura compleja. En muchas especies de hongos se han sido identificado diferentes moléculas bioactivas, pero los polisacáridos son las sustancias más estudiadas y más potentes con propiedades antitumoral e inmunomoduladora demostradas (Mizuno 1996, 1999a, b, 2002; Lorenzen y Anke 1998; Borchers y col. 1999; Ooi y Liu 1999; Wasser y Weis 1999; Tzianabos 2000; Reshetnikov y col. 2001).

Los polisacáridos pertenecen a una clase particular de macromoléculas, son polímeros que contienen monosacáridos unidos por uniones glicosídicas. Es importante destacar que en comparación con otros biopolímeros como las proteínas y ácidos nucleicos, los polisacáridos tienen una mayor capacidad para llevar información biológica puesto que tienen un mayor potencial de variabilidad estructural. En efecto, los nucleótidos en los ácidos nucleicos y los aminoácidos en las proteínas pueden unirse de una sola manera mientras que las unidades de monosacárido en los polisacáridos pueden interconectarse en varios puntos para formar una gran variedad de estructuras lineales o ramificadas (Sharon y Lis, 1993); ello aporta la flexibilidad necesaria para la precisión de los mecanismos reguladores de las interacciones célula-célula en los organismos superiores.

Los polisacáridos están presentes en los hongos principalmente como glucanos, es decir donde el monosacárido constituyente es la glucosa que se une mediante diferentes tipos de uniones glicosídicas, como (1→3), (1→6) en los β-glucanos y (1→3) en los α-glucanos, pero algunos son verdaderos heteroglicanos, es decir que también poseen otros monómeros de hidratos de carbono. La fuente principal de polisacáridos antitumorales parece ser las paredes celulares de los hongos que están formadas por polisacáridos, aunque también los secretan al medio en que crecen. Por otro lado, otros biopolímeros fúngicos, la quitina y el quitosano - un polímero de acetil-glucosamina y su derivado respectivamente, resultante de la desacetilación alcalina o bien enzimática - no tienen ninguna actividad antitumoral (Mizuno y col., 1995). El β-D-glucano es un polisacárido que produce exclusivamente D-glucosa luego de la hidrólisis ácida (Figura 8) (Mizuno 1996, 1999a).

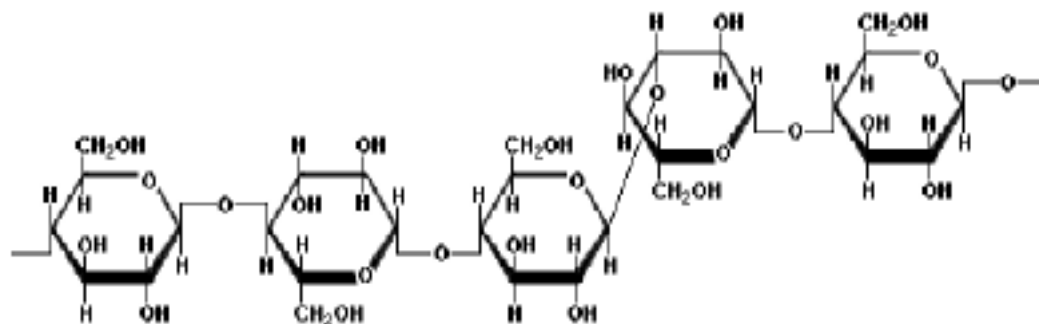


Figura 8. Beta-Glucano. Fórmula empírica propuesta de la unidad de glucosa repetida, $(C_6H_{10}O_5)_5$.

El constituyente primario con efecto en el sistema inmunológico fue identificado a fines de los años 80 como un betaglucano unido a proteína.

En la naturaleza existen diferentes polímeros de glucano. Esta variedad de formas hace que, al igual que las proteínas, la estructura de la molécula de glucano resulte importante para su actividad. No está claro si todos actúan vía un mecanismo común, sin embargo los macrófagos - célula del sistema inmune perteneciente a la serie de glóbulos blancos - poseen receptores en la membrana celular para los β -glucanos (Mueller y col., 2000).

Los β -glucanos están formados por polisacáridos no ramificados de β -D-Glucosa, con un enlace $1\beta \rightarrow 3$ por cada tres o cuatro enlaces $1\beta \rightarrow 4$. Los β -glucanos forman moléculas largas y cilíndricas que pueden contener hasta 250.000 unidades de glucosa. Los β -glucanos también se encuentran en las paredes de las células del endosperma de granos como la cebada y la avena, y ayudan a reducir las enfermedades del corazón bajando el nivel de colesterol y reduciendo la reacción glicémica de los carbohidratos. Se usan comercialmente para sustituir grasas y para modificar la textura de los productos alimenticios.

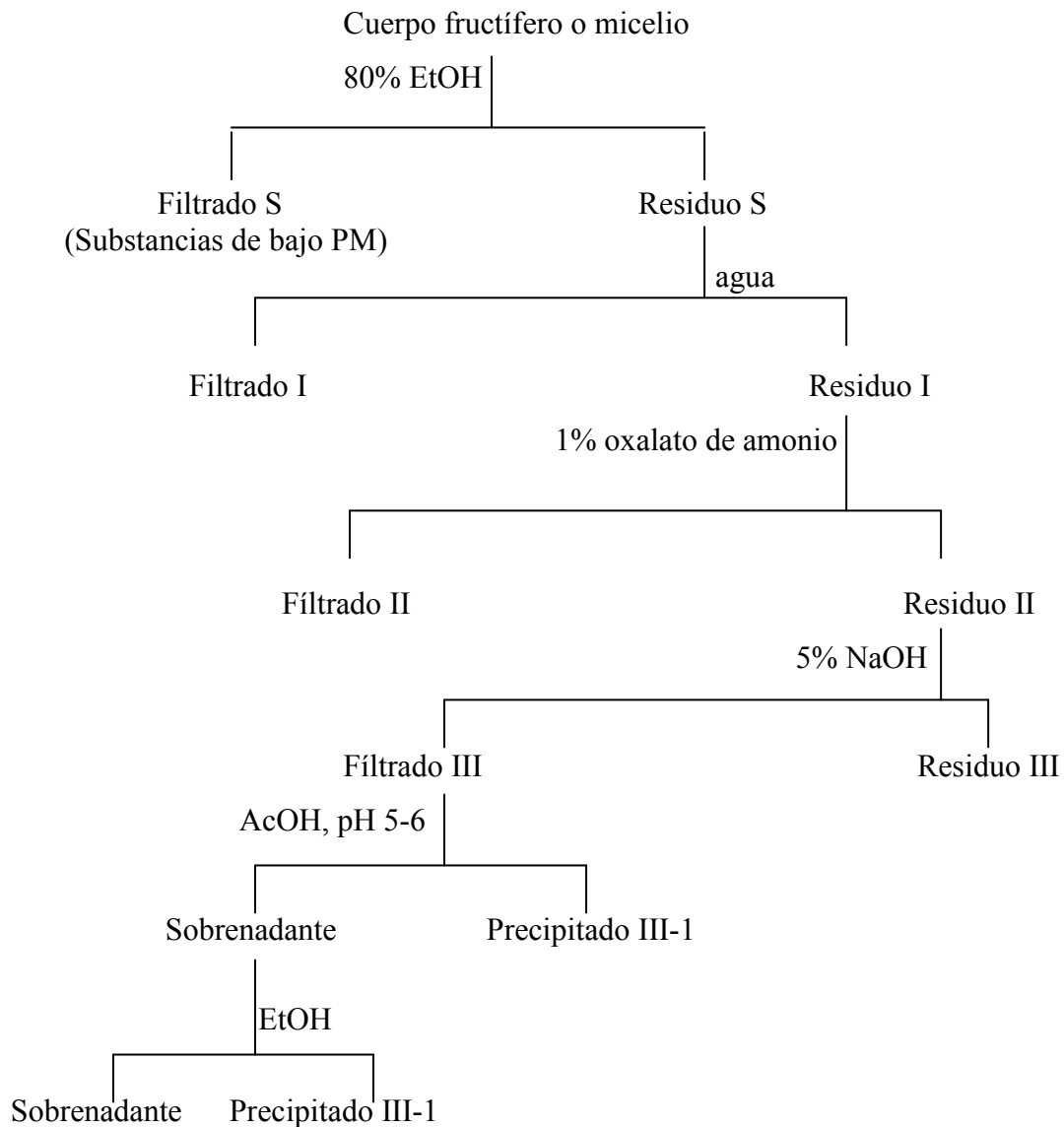
Obtención de los polisacáridos de hongos

Hay una gran similitud entre los diferentes métodos que se han desarrollado para extraer los polisacáridos a partir de los cuerpos fructíferos de hongos, del micelio y del medio líquido de micelio en cultivo (Mizuno, 1999a). En el paso inicial el hongo o micelio seco se calienta repetidamente en etanol 80% para extraer y eliminar las sustancias de bajo peso molecular. Las fracciones crudas I, II y III se obtienen del residuo remanente luego de la extracción con etanol, mediante extracción con agua (100C, 3h), con oxalato de amonio 1% (100C, 6h) y con

hidróxido de sodio 5% (80C, 6h) en ese orden (Figura 9). La purificación posterior de los polisacáridos se logra mediante una combinación de técnicas que incluyen concentración en etanol, precipitación fraccionada, precipitación con ácido acético, cromatografía de intercambio iónico, filtración en gel y cromatografía de afinidad (Mizuno, 1999a; Yap y Ng, 2001).

Los polisacáridos están cobrando cada vez más importancia por su efecto inmunomodulador no específico. Los llamados “modificadores de la respuesta biológica” pueden ser potentes agentes antivirales y antitumorales, que no matan directamente los virus o las células cancerosas, sino que estimulan la habilidad innata del cuerpo de dirigir las defensas celulares, es decir potenciando la respuesta de lo que los investigadores japoneses de cáncer han denominado “los mecanismos de defensa intrínsecos del hospedador”, una propiedad que generalmente falta en las drogas anticáncer convencionales.

Figura 9. Extracción de polisacáridos de hongos medicinales (Mizuno, 1999a)



Los polisacáridos del Maitake y su valor medicinal

Los polisacáridos presentes en Maitake tienen una estructura especial y están entre los más poderosos estudiados a la fecha. A principios de los 1980s el micólogo Hiroaki Nanba y colaboradores, de la Universidad Farmacéutica de Kobe, Japón, estudiando varios hongos medicinales, en especial el Shiitake, observaron que los polisacáridos de Maitake tenían una estructura única y eran muy potentes, demostrando en pruebas con animales una actividad antitumoral más pronunciada que otros extractos de hongos (Kodama y col., 2003). También

encontraron que el Maitake podía ser un inmunomodulador efectivo de administración oral, lo cual lo hacía potencialmente más fácil de usar en comparación, por ejemplo, con extractos del Shiitake (*Lentinan*) cuyo efecto sólo era óptimo cuando se administraba por inyección.

Nanba y colaboradores decidieron enfocarse exclusivamente en Maitake, y junto a otros científicos japoneses comenzaron a extraer varios polisacáridos de este hongo y a probar su potencial como inmunomodulador y antitumoral. En 1984 identificaron una fracción aislada tanto en el micelio como en el cuerpo fructífero, con la habilidad de estimular los macrófagos. Esta fracción podía obtenerse extrayendo los cuerpos fructíferos con agua caliente y el extracto hidrosoluble resultante tratándolo con alcohol etílico 80%. Luego distintas fracciones se obtenían en medio alcalino de OHNa y ácido acético. Se dio el nombre de fracción D al beta-glucano que se obtuvo en el cuarto paso de este procedimiento de extracción en agua caliente a partir de Maitake en polvo. La fracción D resultante es una forma estandarizada de compuestos de polisacáridos β -glucanos (β -1,6 glucano y β -1,3 glucano) y proteína, con un peso molecular de aproximadamente 1.000.000. En apariencia es un polvo higroscópico de tonalidades marrones, neutro a débilmente ácido. En 1984 en Japón se emitió una patente a Nanba y su grupo (Kodama y col., 2002).

El alto peso molecular de la fracción D también parece ser un factor determinante para un efecto inmunomodulador potenciado, según la investigación de la actividad antitumoral y el consumo de glucosa por los macrófagos. En efecto, una investigación concluyó que un glucano antitumoral no siempre es un estimulador general del sistema de defensa del hospedador y que se requiere un peso molecular grande para aumentar múltiples actividades inmunológicas (Kodama y col., 2005). Asimismo, un estudio posterior demostró que la proporción de ramificación y el peso molecular de los beta-D-glucanos son características importantes para la producción de citocinas por los macrófagos (Lin y Liu, 2006).

Una reciente revisión de los datos existentes relacionados al mecanismo de acción de los hongos enteros y de compuestos aislados de los mismos, particularmente ciertos β -glucanos, concluyó que los mecanismos antitumorales de varias especies, incluyendo el Maitake, están mediados generalmente por las células-T y macrófagos y los investigadores enfatizan que“A pesar de las similitudes estructurales y funcionales de estos glucanos, ellos difieren en su efectividad contra tumores específicos y en su habilidad para inducir diferentes respuestas celulares, particularmente, la expresión y producción de citocinas” (Lee y col., 2008).

También se han obtenido otras fracciones de Maitake; por ejemplo, la fracción X que es un β -1,6 glucano con ramificaciones α -1,4. Una teoría es que a mayor grado de ramificación,

más alta la probabilidad de que la fracción alcance y active un número mayor de células del sistema inmunológico.

Hacia fines de la década del 80 y durante la década del 90, Nanba y su colega Kubo continuaron estudiando la actividad de la fracción D (Kubo y Nanba, 1996a, 1996b, 1997). Una mayor purificación de la misma resultó en la fracción MD (Patente americana # 5.854.404), que para ellos era más bioactiva aún que la fracción D. La fracción MD se extrae y fracciona del micelio y de los cuerpos fructíferos de *Grifola frondosa*, *G. albicans*, *G. umbellata*, o *G. gigantea*. El proceso de extracción es similar al descrito en la patente japonesa para la fracción D; sin embargo, Nanba y Kubo agregaron un paso clave para eliminar el material adherido o flotante, agregando alcohol en una concentración final de 20 a 60% en volumen al extracto de *Grifola* soluble en agua. Los análisis mostraron también que el componente principal de la fracción MD es un complejo glucano/proteína en una relación en el rango de 80:20 a 99:1 (Cui y col., 2007) y entonces las fracciones D y MD tienen las mismas configuraciones de β -glucanos, pero la MD es más purificada.

Los polisacáridos de Maitake que se han informado poseer acción antitumoral e inmunomoduladora (Wasser, 2002) son : β -1,6 glucano, β -1,3 glucano, manoxiloglucano, xiloglucano y manogalactofucano.

Otros compuestos bioactivos

No sólo los polisacáridos son biológicamente activos. En efecto, se han descrito numerosas sustancias obtenidas de diversos Basidiomicetos que demostraron poseer propiedades medicinales. Entre ellas se destacan las pertenecientes a los siguientes grupos: glicolípidos, compuestos derivados del ácido shikímico (estrobilurinas y oudemansinas), fenoles aromáticos (drosofilina, armillasirina, omfalone), derivados de ácidos grasos (ácido filibolético, ácido podoscífico), poliacetilenos (agrocibina, xerulina), policétidos (caloporósido, hericenonas A-H), nucleósidos (clitocina, nebularina), diferentes sesquiterpenos (protoilludanos, marasmanos, hirsutanos, cariofilanos, etc.), diterpenos (ciatina, estriatal), sesterterpenos (aleurodscal), y muchas otras sustancias (Lorenzen y Anke, 1998; Mizuno, 1999a; Wasser y Weis, 1999).

XV. ACCIONES FARMACOLÓGICAS

Aspectos Nutracéuticos, nutricéuticos, farmacéuticos y cosmeceuticos

El valor funcional de los hongos, i.e. el derivado de la presencia en ellos no solo de componentes con valor nutricional sino de otros que son beneficiosos para la salud y por lo tanto de valor medicinal, se refiere como nutracéutico. En cambio, los extractos parcialmente purificados de esos hongos que poseen esos últimos componentes se denominan nutricéuticos (<http://www.criba.edu.ar/cerzos/paginas/HongoscomoAlimentosFuncionales.pps>), si además ese valor se refiere en particular a su capacidad para el cuidado de la piel, entonces recibe el nombre de cosmeceutico. Este término fue usado por primera vez hace más de 30 años por el científico Albert Kligman, en una reunión de la Sociedad de Química Cosmética, para identificar un producto que pudiera tener un efecto terapéutico sobre la piel (Draeos, 2005).

A muchos hongos comestibles de origen asiático se les atribuyen propiedades nutracéuticas. Los hongos asiáticos más conocidos y cultivados son: *Lentinula edodes* (Shiitake), *Grifola frondosa* (Maitake), *Auricularia judea* (Hongo Oreja), *Flammulina velutipes* (Enoki) *Cordyceps sinensis* (Caterpillar fungus), *Ganoderma lucidum* (Reishi) y *Hypsizygus marmoreus* (Bunashimeji). Dentro de este grupo *G. frondosa* es apreciado no sólo como hongo comestible sino como poseedor de excelentes propiedades nutracéuticas.

Wasser y Weis informaron en 1999 que con *G. frondosa* se había desarrollado comercialmente un nutricéutico, para la venta como suplemento dietético, poseedor de las siguientes propiedades medicinales: anti-viral, anti-bacteriano y anti-parasitario, regulador de desórdenes cardiovasculares y de la presión sanguínea, anti-diabético, y modulador del sistema inmunológico. A otros productos no comerciales se les han atribuido variados efectos terapéuticos: antifúngico, hepatoprotector y para tratar la bronquitis crónica.

Actualmente a *G. frondosa* se lo comercializa internacionalmente como nutracéutico en diversas formas: fresco, seco, en cápsulas y como té (Stamets, 1993; Mizuno y Zhuang, 1995; Royse y Guardino, 1997). Varias empresas como Fungi Perfecti (EE.UU.), Gourmet Mushrooms and Mushroom Products (EE.UU.), Maitake Products Inc. (EE.UU.), GNC Co. (Reino Unido) e Immunogenic Products (Japón) utilizan internet para vender productos secos para varios mercados: gastronómico, medicinal y de nutricéuticos.

En cuanto a los aspectos medicinales de *G. frondosa*, se han publicado más de 100 trabajos de investigación desde 1990. El polisacárido primario, responsable de su actividad medicinal, la fracción MD (β -1,6 glucano con una cadena lateral β -1,3) recibió el nombre de *Grifolan*. La investigación actual ha mostrado que los beneficios para la salud, previamente intangibles,

que se obtienen de consumir *G. frondosa* ahora pueden explicarse parcialmente por la presencia de β -glucano y Grifolan. Éste es un paso significativo en el conocimiento de los componentes activos en *G. frondosa*, pero aún se requiere una investigación científica rigurosa sobre las propiedades medicinales de este hongo, los beneficios potenciales identificados, el mecanismo por el que los componentes mencionados ejercen su actividad farmacológica, las enfermedades y síntomas contra los que ellos son eficaces y las dosis necesarias para el beneficio de los pacientes.

Desafortunadamente, el uso del término "cura" por los defensores de estos nutra y nutricéuticos de hongos en lugar del más aceptado término de "remisión" cuando se trata del cáncer, genera dudas sobre la validez de los estudios en esta enfermedad. La medicina occidental vería más favorablemente la investigación realizada en países asiáticos si se usara la misma metodología y terminología al presentar los resultados de la investigación. Esto, a su vez, reforzaría el nivel de aceptación del uso de hongos con propiedades medicinales por los médicos occidentales. Se ha criticado que la comprobación de la eficacia de *G. frondosa* en pacientes de cáncer se realizó con individuos en una condición terminal y sin grupo control. Los argumentos contra esta crítica es que las víctimas de cáncer terminal están desesperadas por encontrar una remisión o cura y están dispuestas a probar cualquier medio para controlar su enfermedad y así toman parte en ensayos con medicación de eficacia desconocida, en este caso *G. frondosa*. Establecer un grupo control en este tipo de pacientes, dando un placebo, sería jugar con la vida de las personas y por consiguiente moralmente inexcusable para los investigadores que trabajan en esta área.

A pesar de las críticas ya mencionadas, el Maitake está reconociéndose cada vez más como una fuente excelente de polisacáridos que tienen un gran potencial en la promoción de la salud. El desarrollo más reciente como ya se ha mencionado, es la fracción MD, que supera la fracción D precedente. Estas fracciones y otros extractos, a veces en combinación con polvo del mismo hongo, tienen un efecto inmunomodulador, y como tal promisoriamente útil para acompañar las terapias para el cáncer y el SIDA. La bioactividad exhibida por esta fracción de Maitake sugiere que su uso resulta beneficioso en el tratamiento de diversas condiciones que afectan la salud. A continuación se mencionan algunas de las actividades estudiadas.

Actividad Inmunomoduladora

El interés principal por el hongo Maitake radica en su habilidad de reforzar la función del sistema inmune e inhibir el crecimiento de tumores.

Aunque generalmente se piensa en los polisacáridos o hidratos de carbono como proveedores de energía a las células del cuerpo, la investigación revela que muchos están involucrados en el reconocimiento molecular. Específicamente, los hidratos de carbono de la superficie celular ayudan a la comunicación entre las células. Los macrófagos (células de la sangre que forma parte de la primera línea de defensa del sistema inmune) tienen receptores para beta-glucanos, y cuando los macrófagos se activan destruyen microorganismos patógenos y células tumorales mediante la fagocitosis. También liberan mensajeros celulares llamados citocinas, incluyendo interleucina-2 e interferon-gama, que activan los linfocitos (células *T-helper* y células *killer* naturales). Las células *killer* naturales patrullan el cuerpo y atacan las células cancerosas antes que desarrollen en tumores. Las células *T-helper* entretanto, organizan la respuesta de los componentes celulares del sistema inmune del cuerpo, incluyendo células productoras de anticuerpos y células T citotóxicas (Wasser, 2002). Los β 1,3-D glucanos se consideran modificadores de la respuesta biológica debido a su habilidad de activar el sistema inmunológico (Miura y col., 1996). La actividad de los β 1,3-D glucanos es diferente de otros agentes que estimulan el sistema inmune y que suelen provocar una sobre-estimulación, y por ello se contraindican en individuos con enfermedades autoinmunes, alergias, o micosis. Los β 1,3-D glucanos hacen que el sistema inmunológico trabaje mejor sin sobreactivarlo. Logran esto activando los fagocitos que son las células del sistema inmune que atrapan y destruyen sustancias extrañas en nuestros cuerpos como bacterias, virus, hongos y parásitos (Chihara, 1992).

Actividad antitumoral

Los polisacáridos de ciertos hongos previenen la oncogénesis, muestran una actividad antitumoral directa contra diferentes tipos de tumores y previenen la metástasis. La actividad de inhibición de cáncer y metástasis y de prevención del cáncer de la fracción D de Maitake fue estudiada, entre otros, por Nanba (1993, 1995, 1997a, 1997b) y sus trabajos fueron reconocidos y publicados en revistas de prestigio internacional. Los polisacáridos de ciertos hongos no atacan las células cancerosas directamente, sino que actúan activando la respuesta inmune en el paciente, como se mencionó precedentemente. La aplicación práctica no sólo es dependiente de las propiedades biológicas, sino también de la disponibilidad biotecnológica (Wasser, 2002).

El grifolan se ha informado como potenciador y activador colaborando con las células T, las células T citotóxicas, las células T hipersensibles, células *killer* naturales y los macrófagos en el tratamiento de cáncer (Kodama y col., 2003).

Se ha informado la inhibición de cáncer de mama (carcinoma MM 46), del cáncer pulmonar (carcinoma pulmonar Lewis) y del cáncer de hígado (carcinoma MH-164) cuando se lo administra oralmente o por vía i.p. en ratones (Kodama y col., 2002, 2003, 2005). Una respuesta similar se obtuvo cuando se administraron 100-250 mg/día de la fracción MD, con 3-6 g de *G. frondosa* en polvo y 5-10 mg de vitamina C a pacientes de cáncer en fase III-IV. La mejora en la respuesta inmunológica al cáncer y la regresión en el tamaño de los tumores se había informado en pacientes con cáncer pulmonar (64%), cáncer de mama (70%) y cáncer de hígado (6%). El tratamiento con quimioterapia más los compuestos de *G. frondosa* mejoraron la tasa de regresión de cáncer a 70-83% (Nanba y col., 1987; Liberman y Babal, 1997).

Estudios realizados por Zhuang y Mizuno (1999) mostraron que los polisacáridos y complejos de polisacárido-proteína de este hongo tienen significativa actividad antitumoral. Un limitado número de estudios clínicos en Japón y EEUU ha mostrado que una fracción purificada de polisacárido es muy eficaz contra cánceres de mama, pulmón, hígado, próstata y cerebro (Smith y col., 2002).

Actualmente existe en el mercado un extracto altamente purificado, llamado Grifon-D (GD: β -1,6 glucano ramificado con uniones β -1,3). En modelos animales, este GD tiene considerables actividades immuno-moduladoras y antitumorales, y es biodisponible cuando se administra oralmente (Hishida y col., 1988; Smith y col., 2002). El polvo de Maitake crudo y su fracción D han demostrado una notable capacidad para inhibir las metástasis en un modelo del ratón inmunocompetente, sobre todo en la prevención de metástasis hepática que fue reducida entre un 81% (Maitake en polvo) y un 91% (fracción D) (Nanba, 1995). También se observó que GD tiene un efecto citotóxico sobre células de cáncer de próstata humanas (PC9) *in vitro*, posiblemente actuando a través del estrés oxidativo, y causando 95% de muerte celular por apoptosis; la adición de vitamina C reducía la cantidad efectiva de GD requerido. El uso simultáneo de GD y varias drogas antitumorales mostró escasa potenciación de su eficacia, a excepción de la combinación carmustine/GD (que resultó en 90% de reducción de la viabilidad celular). La potenciación por vitamina C de la acción de GD y el efecto quimiosensibilizador de GD sobre la actividad de carmustine puede que tenga implicaciones clínicas significativas. Fullerton y col. (2000) sugieren que GD puede ser útil con algunas drogas anticáncer para mejorar la eficacia de la quimioterapia. La fracción D de Maitake es un compuesto relativamente nuevo y en USA y Japón hay varios ensayos clínicos en curso en cánceres de mama, próstata, pulmón, hígado y estómago, la mayoría de éstos en una fase clínica temprana (fase I / II). A pesar de que existen otros compuestos, esta fracción resultó

ser la más potente y efectiva en la estimulación del sistema inmune luego de su administración vía oral o venosa, alcanzando un elevado % en la reducción de la proliferación tumoral (Hishida y col., 1988). También se informó que la fracción D ejerce un efecto antitumoral en ratones con tumores, incrementando el sistema inmune por estimulación de los macrófagos, células T y Natural Killer (Kodama y col., 2005). Por otra parte se ha informado que esta fracción en combinación con la inmunoterapia y la quimioterapia reduce el tamaño tumoral en pacientes con cáncer de mama, pulmón e hígado (Ohno y col., 1985; Hishida y col., 1988; Nanba, 1993).

La mayor parte de los trabajos científicos se basan en la fracción D de Maitake. La notable inhibición del crecimiento de tumores informada en ratones condujo al desarrollo del producto comercial por la Compañía Maitake Products, Inc. (Ridgefield, New Jersey) preparado con procedimientos estandarizados. Este producto, llamado Grifron® Maitake D Fraction®, apareció en el mercado americano de los suplementos dietéticos en 1995 y se lo ha usado en investigación en pequeños animales.

En 1998, la Administración Federal de Drogas y Alimentos (FDA, EEUU) aprobó el empleo de los productos Maitake en un estudio piloto en fase II aplicado a pacientes con cáncer de mama y de próstata avanzados, para evaluar el efecto inmuno-estimulador de la fracción D en el tamaño tumoral, síntomas clínicos y calidad de vida de los pacientes.

Muchos agentes anti-cáncer, incluyendo los extractos del hongo, son eficaces sólo si se los administra por inyección. En el caso de la fracción D de Maitake, ella tiene la ventaja de ser también eficaz administrada oralmente. En la Tabla 4 se presentan los resultados resumidos de experimentos usando tumores singénicos transplantados y que mejor representan un modelo de crecimiento natural del tumor.

Tabla 4. Comparación de inhibición de crecimiento tumoral luego de la administración oral e intraperitoneal (Hishida y col., 1988)

Ratones (línea)	Sistema tumoral	Inhibición del crecimiento	
		Oral	Intraperitoneal
C3H	carcinoma MM-46 (mama)	64,0% (1,5 mg)	83,2% (1,0 mg)
CDFI	carcinoma IMC (piel)	75,0% (1,5 mg)	47,7% (1,0 mg)
C57BL/6	melanoma B-16 (piel)	27,3% (1,5 mg)	25,6% (1,0 mg)

Anticarcinogenesis

Para determinar si la fracción D podía prevenir el desarrollo de cáncer en animales saludables, se hizo un estudio en tres grupos de ratones (Lieberman y Babal, 1997). El primer grupo recibió una dieta control, el segundo una dieta que incluía 20% de Maitake en polvo, y el tercer grupo una dieta control más la administración oral de la fracción D en una dosis de 1 mg/kg de peso, durante treinta días. Durante el período, los ratones recibieron un carcinogénico químico (N-nitrosodi-n-butilamina) tres veces a intervalos de siete días. Después de 60 días, se contaron los tumores que desarrollaron en el hígado. La proporción de ocurrencia de cáncer en el grupo control fue del 100%. En el grupo alimentado con Maitake, 22.2% por ciento de los ratones tenían cáncer, y en el grupo que recibió la fracción D sólo el 9.7% tenían cáncer.

Inhibición de Metástasis

La prevención de la diseminación, o metástasis, de cáncer de un área del cuerpo a otra es una preocupación mayor en el tratamiento del cáncer dado que el cáncer metastático es mucho más difícil de tratar que el localizado. Para determinar si la fracción D podía inhibir la metástasis, se inyectaron ratones con células de cáncer y luego se dividieron en tres grupos: el primer grupo recibió una dieta control, el segundo una dieta que incluía 20% de Maitake en polvo, y el tercer grupo una dieta control más la fracción D en administración inyectable de 1 mg/kg de peso. Se les inyectó carcinoma de hígado MM-146 en las plantas de las patas. A los 30 días de tratamiento con la fracción D se contó el número de focos del tumor que había hecho metástasis en hígado. La metástasis fue inhibida un 81,3% en el grupo alimentado con Maitake y un 91,3% en el grupo que recibió la fracción D, con respecto al control (Lieberman y Babal, 1997).

Sinergia con Quimioterapia

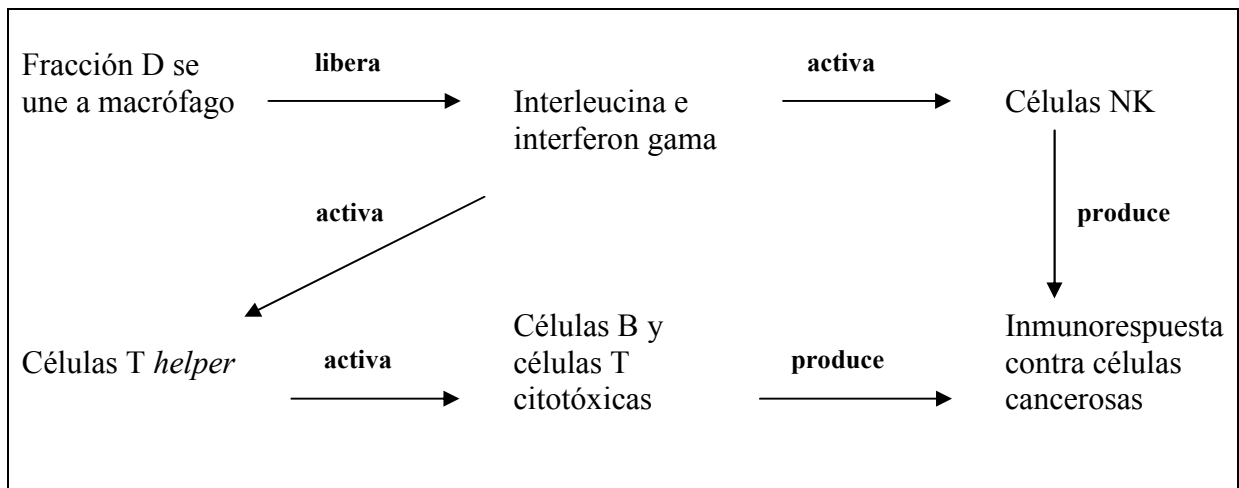
Se hizo un estudio en ratones para comparar la fracción D con la Mitomicina-C (MMC), una de las drogas más fuertes y más ampliamente usada en quimioterapia, y que también tiene efectos colaterales severos. Con solo una pequeña dosis, el extracto de Maitake produjo aproximadamente un 80% de retracción (o encogimiento) de tumores en ratones comparado al 45% producido por la MMC. Cuando los dos agentes se combinaron, con solo la mitad de dosis de ambos se obtuvo un sorprendente 98% de encogimiento en 14 días, demostrando una clara sinergia entre los dos agentes (Shirota, 1996).

Estudio de casos con la fracción D

Los estudios realizados en ratones sugirieron que la fracción D impide la iniciación, el crecimiento y la diseminación de las células tumorales mediante la activación de células importantes y mediadores químicos del sistema inmune que luchan contra dichas células cancerosas. Se han hecho importantes estudios con pacientes humanos o con células humanas en cultivo. Kodama y col. (2002), demostraron que la actividad de las células *killer* en 8 pacientes de cáncer aumentaba por un factor de 1,2 a 2,7 veces luego del tratamiento con la fracción D. Dado que la actividad de las células NK (*natural killer*) es uno de los indicadores más importantes del funcionamiento de sistema inmune, estos datos apoyan los hallazgos en ratones.

En un estudio posterior (Kodama, y col., 2003) en 10 pacientes humanos con diferentes tipos de cáncer avanzado (estados II, III y IV), todos los pacientes experimentaron un aumento (en algunos casos dramático) en la actividad de sus células NK, después del tratamiento con la fracción D. En solo un caso hubo metástasis luego de iniciado el tratamiento.

El siguiente esquema muestra el posible mecanismo de acción de la fracción D como agente activador del sistema inmune (Harada y col, 2003).



La fracción D y la apoptosis de células cancerosas

Los datos más intrigantes de esta fracción y su mecanismo de acción vienen del laboratorio del Dr. Konno (2002) del Colegio Médico de Nueva York. Su grupo investiga el mecanismo de resistencia a drogas en células de cáncer de próstata. El cáncer de próstata es el más común

en hombres mayores y en los Estados Unidos causa la muerte de unos 40.000 hombres por año. El grupo de Konno descubrió que la fracción D, en concentraciones desde 480 ug/ml, puede causar una apoptosis (programación de muerte celular) casi total. Es un hallazgo significativo por dos razones:

- La mayoría de los agentes empleados actualmente en quimioterapia matan las células cancerosas por necrosis. Éste es un proceso al azar que produce la ruptura celular y la liberación de materiales citotóxicos en el área circundante, afectando a menudo otras células saludables. La apoptosis mata sólo aquellas células cuyo programa genético les indica que cometan suicidio, sin perturbar las células adyacentes.
- Las células de cáncer de próstata que sufren apoptosis son células independientes de hormona y son una forma muy agresiva de la enfermedad. Este tipo de cáncer de próstata ha demostrado ser muy resistente a los agentes convencionales de la quimioterapia. La mayoría de los hombres con este tipo agresivo de cáncer de próstata mueren en pocos años. Así, el éxito de la fracción D en cultivo celular puede abrir la puerta a una nueva forma de tratamiento de una enfermedad muy difícil tratar.

También se descubrió que la dosis de fracción D necesaria para matar más del 90% de las células de cáncer de próstata en cultivo podía reducirse a tan solo 60 ug/ml, combinándolo con vitamina C a una concentración de 200 uM. Aparentemente, la vitamina C y la fracción D trabajan en forma sinérgica para provocar la apoptosis, dado que esta concentración de vitamina C por sí sola no causa ninguna actividad apoptósica apreciable (Fullerton y col., 2000).

Otro efecto sinérgico se encontró entre la fracción D y la droga anti-cáncer carmustina (usada para tratar cáncer del cerebro). En los cultivos del Dr. Konno la carmustina reducía la viabilidad de las células de cáncer de próstata en un 50% a una dosis de 50 uM. Cuando se la combinó con 60 ug/ml de fracción D, aproximadamente 90% de dichas células eran eliminadas. Ningún otro agente de quimioterapia - solo o en combinación con otras drogas - producía este resultado.

Estudios posteriores sobre el mecanismo de acción de la carmustina y la fracción D sugirieron que la muerte por apoptosis se relaciona con una inactivación de la enzima glioxalasa I. Se ha postulado que esta enzima confiere a las células de cáncer resistencia a las drogas, y se encuentra en concentraciones 8 veces más elevadas en tejido de cáncer de próstata que en tejidos no cancerosos.

Otras investigaciones (Konno, 2004) mostraron que esta fracción D puede inhibir el crecimiento o eliminar células de cáncer en animales domésticos.

La tabla 5 resume los hallazgos del Dr. Konno (2002):

Tabla 5. Efecto de la fracción D sobre el crecimiento de células en cultivo

Tipo de cáncer	Efecto de la fracción D sobre el crecimiento celular	Concentración efectiva de fracción D
PC-3 (Próstata)	>95% muerte celular	480 ug/ml ó 60 ug/ml + Vit. C (200 uM)
T24 (Vejiga)	>95% muerte celular en 24h	1.060 ug/ml ó 265 ug/ml + Vit. C (200 uM)
U-87 (Cerebro)	90% inhibición de crecimiento celular en 72 h	265 ug/ml
HL-60 (Leucemia)	>90% muerte celular en 24 h	>530 ug/ml

Es importante destacar que varios efectos colaterales severos de la quimioterapia se reducían cuando se incluía Maitake en el tratamiento convencional. Los síntomas de náusea, pérdida de cabello y leucopenia (deficiencia de glóbulos blancos de la sangre) se aliviaban en el 90% de los pacientes, así el Maitake mejoraba el sistema inmune y ayudaba a mantener la calidad de vida de los pacientes (Jones, 1998).

Actividad antimicrobiana (virus y bacterias)

Las propiedades anti-HIV de Maitake se han reconocido en Japón y en EE.UU. El Instituto Nacional del Cáncer (NCI, 1992) confirmó la eficacia de la fracción D contra el HIV, y un año después lo hizo el Instituto Nacional de Salud de Japón. Se indicó que la fracción D podía prevenir la destrucción de las células T infectadas por HIV *in vitro* hasta en un 97%. Esto es muy importante porque el conteo de las células T de un paciente es una referencia de la progresión del HIV hacia el desarrollo del SIDA. Es más, los investigadores del NCI admitieron que el extracto de Maitake es tan poderoso como el AZT (la droga normalmente prescrita para el SIDA, y la única aceptada por la FDA en esa época) pero sin los efectos tóxicos colaterales asociados al AZT. Estos prestigiosos institutos de investigación confirmaron en experimentos de laboratorio que la fracción D refuerza la actividad de otras células inmunes así como de los linfocitos T.

La actividad anti-viral fue investigada por Nanba y col. (2000) quienes administraron 3-6 g de *G. frondosa* en polvo con 5-10 mg de vitamina C durante un año a 35 pacientes de HIV. Utilizaron una prueba de sangre (recuento celular CD4+) para determinar qué tan bien trabaja el sistema inmune en personas que habían sido diagnosticadas con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV): y observaron que el recuento celular CD4+ aumentó en 20 pacientes y disminuyó en 8, la carga viral disminuyó en 10 pacientes y aumentó en 9. Es incierto si todos los pacientes informaron su reacción al tratamiento pero 20 de ellos informaron mejora de sus síntomas. Un 85% de aumento en la sensación de bienestar se atribuyó a un aumento en las célula *helper* T y CD4+, más una disminución en la carga viral.

Este tratamiento también tuvo un efecto positivo en la infección por Candida y en el sarcoma de Kaposi (Nanba y col., 2000) un cáncer de piel frecuente en pacientes de SIDA. Estos resultados son muy promisorios pero se requieren más investigaciones para apoyar y clarificar los hallazgos. Pero desde entonces, varios profesionales involucrados en el tratamiento del SIDA/HIV han informado respuestas favorables en sus pacientes, incluyendo aumentos en las células T y la reversión del estado HIV-positivo a HIV-negativo.

Es interesante notar que una fracción β -glucano de este hongo está siendo usada actualmente por más de 3.000 profesionales de la salud en EEUU, para la prevención y/o tratamiento de gripe e infección común (bacterias y virus).

Actividad antidiabética

Por lo menos dos estudios han sugerido los efectos antidiabéticos del Maitake. En 1994, Kubo y col. encontraron que *G. frondosa* tenía efecto sobre la *diabetes mellitus* no dependiente de insulina. Alimentaron ratones genéticamente diabéticos con una dieta que incluía 20% de polvo del fruto de Maitake durante ocho semanas. Observaron que el Maitake inhibía el aumento de la glucosa en sangre y que también la fracción X tenía esta actividad. Estos hallazgos sugirieron que el Maitake es efectivo para disminuir el azúcar en sangre en animales diabéticos (Kubo y col., 1994). Un estudio siguiente por Kubo y Nanba (1996a), también en ratones genéticamente diabéticos, buscó identificar el material activo y examinar su mecanismo. Se observó que el Maitake inhibió significativamente el aumento de glucosa en sangre, y se determinó que el mecanismo antidiabético estaba relacionado a la fracción X asociada directamente con los receptores de insulina. Estos resultados sugieren que el Maitake podría aumentar la sensibilidad a la insulina.

Actividad protectora del sistema vascular

Se ha informado que el consumo de *G. frondosa* disminuye la presión sanguínea (Kabir y col., 1987; Adachi y col., 1988; Jong y col., 1991; Mizuno y Zhuang, 1995; Kubo y Nanba, 1996b; Kubo y Nanba, 1997), reduce el colesterol (Kubo y Nanba, 1996b; 1997) y disminuye los síntomas del síndrome de fatiga crónica (Weil A. Help for chronic fatigue. drweil.com/archiveqa/0,2283,17,00.html), pero estos efectos aún no han sido plenamente estudiados. En extractos de hongos basidiomicetos, entre ellos Maitake, se encontraron niveles altos de inhibidores de la enzima catalizadora de la angiotensina I (ACE) (Melzig y col., 1996). Los β glucanos se han identificado como compuestos responsables de disminuir la presión (Keller, 2000).

La mayor causa de mortalidad en mujeres post-menopáusicas son las afecciones cardiovasculares, que por ser “silenciosas”, cuando se presentan los síntomas ya es tarde para su tratamiento, lo cual hace fundamental su prevención. Una mujer de 50 años tiene un 46% de probabilidades de desarrollar enfermedades cardiovasculares y un 31% de morir por esta causa (Stampfer y Colditz, 1991).

En la búsqueda de factores de prevención de las enfermedades cardiovasculares se halló al óxido nítrico (NO) como un potente vasodilatador, siendo además inhibidor de la agregación plaquetaria, de la migración de glóbulos blancos y de la formación de placas de ácidos grasos saturados. La enzima que lo produce es la “óxido nítrico sintasa” regulada por la estrona, el estradiol y la progesterona (Sellés y col., 2001; 2002; 2005). En la menopausia cae el nivel de estas hormonas como también la actividad de aquella enzima, y consecuentemente hay una disminución en la producción del NO. Paralela y silenciosamente comienzan a desarrollarse las disfunciones cardiovasculares conocidas como aterosclerosis y arterioesclerosis. Si bien como medida preventiva se han estudiado y establecido terapias hormonales, existe el riesgo de desarrollo de cánceres de mama y de cuello de útero, motivo por el cual se ha puesto un gran interés en los biomoduladores, i.e. análogos sintéticos, o fitoestrógenos como la genisteína de la soja (Rauschemberger y col., 2005).

Algunas propiedades medicinales de *G. frondosa* están vinculadas con el sistema cardiovascular, i.e. disminución de la hipercolesterolemia mediante un aumento en la excreción fecal del colesterol (Fukushima y col., 2001); descenso de la hipertensión, aumento de la hipotensión y prevención del incremento de la presión arterial (Kabir y col., 1987; Kabir y Kimura, 1989; Kabir y col., 1989). Sin embargo no ha sido estudiado con Maitake un hipotético efecto protector del endotelio vascular mediado por el óxido nítrico;

sólo se sabe que la fracción D provoca la liberación de óxido nítrico en las células del sistema inmune (Brochers y col., 2004).

Colesterol y Triglicéridos

Varios estudios han examinado los efectos de Maitake sobre los lípidos en suero, incluyendo el colesterol y los triglicéridos, obteniendo resultados diversos. En un estudio publicado en 1988, el Maitake seco en polvo, en un 5% del alimento de ratas hipertensivas, bajaba significativamente los niveles de VLDL (lipoproteína de muy baja densidad) y colesterol total (Adachi y col., 1988). Sin embargo, en otro estudio en el mismo tipo de ratas, alimentadas por 8 semanas incluyendo 5% de Maitake en polvo, no se encontraron diferencias en los niveles de colesterol total y libre, triglicéridos y fosfolípidos, con respecto al control (Kabir y Kimura, 1989). Es probable que los datos inconsistentes se deban a la falta de estandarización del Maitake en polvo empleado en los estudios, y al hecho de que el componente responsable de la reducción de lípidos aún no ha sido completamente definido (Jones, 1998).

En otro estudio, se alimentaron ratas con una dieta alta en colesterol y se midieron los efectos de suplementar la dieta con 20% de Maitake en polvo. En este caso se observó una inhibición de la acumulación de grasa en el hígado y una reducción inicial en el colesterol total. Sin embargo, al día 25 la diferencia en el colesterol total ya no era significativa. Las ratas alimentadas con Maitake sí mantenían valores basales de HDL, que normalmente disminuyen con dietas altas en colesterol (Kubo y Nanba, 1996b). En un estudio siguiente con un protocolo similar, las ratas alimentadas con Maitake experimentaron significantes y duraderas reducciones en colesterol y triglicéridos y un mantenimiento similar de los niveles de HDL (Kubo y Nanba, 1997).

Fukushima y col. (2001) investigaron los efectos del consumo de la fibra de los hongos Maitake, Shiitake (*Lentinus edodes*) y Enokitake (*Flammulina velutipes*) sobre el nivel de colesterol sérico y el receptor ARNm de lipoproteínas hepáticas de baja densidad (LDL), en ratas. Los resultados demostraron que la fibra de estos hongos bajó el nivel de colesterol total en suero por aumento de la excreción de colesterol fecal, en el caso del Maitake.

Presión sanguínea

En estudios en animales, el Maitake entero en polvo bajó la presión sanguínea y previno su aumento. Por ejemplo, la presión sanguínea de ratas hipertensas (RH) se reducía significativamente agregando Maitake en polvo al 5% de la dieta durante 9 semanas (Kabir y col., 1987). Posteriores estudios dieron resultados similares. Los investigadores concluyeron

que el Maitake no sólo suprime el desarrollo de hipertensión, sino que también baja la presión sanguínea elevada (Kabir y Kimura, 1989). Otro estudio incluyó estudios histológicos y las ratas alimentadas con Maitake fueron normales excepto por cantidades mayores de glicógeno en el hígado. Según los investigadores, el Maitake en la dieta juega un rol importante en prevenir los cambios histológicos degenerativos en las ratas hipertensas con el beneficio de reducir la presión sanguínea y mejorar el metabolismo de lípidos (Kabir y col., 1989).

Actividad sobre la obesidad

El Maitake tiene efectos potenciales como promotor de la pérdida de peso. Es rico en fibra y bajo en calorías y en grasas, además de proporcionar proteína, algunas vitaminas B, ergosterol (provitamina D2), magnesio, potasio, calcio, ácidos grasos insaturados, fosfatidilserina y otros fosfolípidos. En estudios en animales, el Maitake como principal componente de la dieta inhibe la ganancia de peso. Se alimentaron ratas con 20% (en peso) de Maitake en polvo de una dieta alta en colesterol y el aumento de peso y grasa corporal se inhibió significativamente (Kubo y Nanba, 1996b). Un protocolo similar mejoró el metabolismo de las grasas entre las ratas alimentadas con Maitake, las cuales pesaron un 25% menos que las ratas control, al final del experimento (Kubo y Nanba, 1997). También en los ensayos con ratas hipertensas el Maitake mostró un efecto inhibitorio de la ganancia de peso (Ohtsuru, 1992). En humanos, se realizó un estudio con 30 pacientes obesos a los que se les suministró tabletas de Maitake, equivalentes a 200 g de Maitake fresco, por día durante dos meses. Aunque los pacientes no hicieron ningún cambio en sus dietas regulares, todos perdieron peso. La pérdida de peso media fue de unos 5 Kg y uno de ellos llegó a perder 12 Kg. Algunos pacientes reportaron deposiciones ligeramente más blandas (Yokota, 1992).

Actividad antioxidante

Entre las causas de lesión celular que lleva a diversos procesos patológicos en órganos y sistemas de órganos, está la alteración del ADN, entre cuyas causas principales está la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas ROS pueden ser producidas por las propias reacciones de defensa que llevan a cabo las células del sistema inmune (ej.: neutrófilos o macrófagos activados), en diversas reacciones químicas y procesos metabólicos (ej.: la isquemia seguida de reperfusión) (Cuzzocrea y col., 2001), o bien ser el resultado de varios factores físicos (exposición a radiación ultravioleta o radiación ionizante). Si bien los humanos, como otros organismos, poseen sistemas de defensa y de reparación que han evolucionado para protegerlos contra el daño oxidativo, éstos pueden ser insuficientes para

prevenir totalmente el daño (Simic, 1988). Es por esto que la protección con antioxidantes naturales provenientes de la dieta es muy importante (Zhang y col., 2002). Al respecto, un antiguo proverbio chino predica que “la medicina y el alimento tienen un origen en común”.

Los hongos son una fuente de antioxidantes (Su, 1992; Kim y col., 1994). Estos se han encontrado tanto en cuerpos fructíferos como en micelio (Huang y col., 1999; Mau y col., 2001; 2002a; 2002b; Tsai, 2002; Yang y col., 2002) y contienen usualmente una amplia variedad de moléculas secuestrantes de radicales como polisacáridos y polifenoles (Liu y col., 1997; Mau y col., 2002a; 2002b). *G. frondosa* ha demostrado poseer compuestos con dicha actividad. Un extracto de *G. frondosa* llegó al 90% de la inhibición oxidativa producida por antioxidantes sintéticos (TBHQ, BHA y BHQ) (Zhang y col., 2002). Recientemente, se investigó la actividad antioxidante de *G. frondosa* y se encontró que en su efecto quelante de iones ferrosos es el segundo entre los más importantes hongos medicinales (Mau y col., 2002a). Otros autores encontraron que los polisacáridos tienen actividad antioxidante, incluso después de haber sido irradiados con luz ultravioleta, llegando al 60% de la actividad antioxidante de la vitamina C (Lee y col., 2003). Estos mismos autores citan a los polisacáridos de *G. frondosa* como fotoprotectores de fibroblastos, siendo en este rol similar al de las vitaminas C y E (Bae y col., 2005).

Actividad Anti-inflamatoria

Recientemente, unos investigadores (Zhang y col., 2002) sugirieron que los ácidos grasos de Maitake además de poseer actividades antioxidantes tienen propiedades anti-inflamatorias. Este hongo contiene ergosterol, ergosta-4-6-8(14), 22-tetraen-3-one (21) y 1-oleoil-2-linoleoil-3-palmitoilglicerol, que inhiben la actividad de las ciclo-oxigenasas 1 and 2. De hecho, las capacidades anti-inflamatorias de estos ácidos grasos eran comparables a las de Vioxx (rofecoxib) y Celebrex (celecoxib), medicamentos que producen efectos colaterales negativos especialmente sobre el corazón. Se ha especulado que la inhibición de las enzimas que provocan la inflamación puede estar relacionada a la disminución del riesgo de ciertos tipos de cáncer (Zhang y col., 2002). Aún se necesitan mayores investigaciones sobre la relación de la propiedad anti-inflamatoria del Maitake con su efecto anticancerígeno.

Actividad en enfermedades hepáticas

Varios estudios indicaron que el Maitake también puede ser eficaz en la prevención o tratamiento de los desórdenes hepáticos. A principios de los años 90, en China se hizo un

estudio piloto en 32 pacientes con hepatitis crónicas B. En 1994, en un simposio internacional acerca de productos del hongo Shiitake (*Lentinula edodes*), se informó que aquellos pacientes que ingirieron una preparación de polisacáridos del fruto del Maitake, mostraron signos positivos (con una proporción de la recuperación más alta en los niveles de alanina transferasa) comparado con pacientes control bajo tratamiento convencional (Wu y col., 1994). En otro estudio, se alimentaron ratas Sprague-Dawley con una dieta alta en colesterol y midieron los efectos de fortificar la dieta con 20% de Maitake seco en polvo. Se encontró que el Maitake inhibía la acumulación perjudicial de grasa en el hígado (Kubo y Nanba, 1996b). En un ensayo posterior, los mismos investigadores probaron el fruto de Maitake en polvo, la fracción D y la fracción X, en ratones con daño hepático y encontraron que la hepatitis auto-inmune crónica se manifestaba más severamente en los ratones controles que en los que eran tratados con Maitake (Kubo y Nanba, 1998).

Actividad en el síndrome metabólico

También conocido como síndrome X, síndrome plurimetabólico, síndrome de insulino-resistencia y síndrome de Reaven, se caracteriza por la conjunción de varias enfermedades o factores de riesgo en un mismo individuo que aumentan el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular o diabetes mellitus. En los Estados Unidos, alrededor del 25% de la población mayor de 20 años padece este síndrome (Ford y col., 2002). La edad de los candidatos a padecer este síndrome ha ido bajando de forma dramática. Si antes se hablaba de pacientes que bordeaban los 50 años, ahora el grupo de riesgo está situado en torno a los 35 años, ello porque desde etapas muy tempranas de la vida, las personas tienen malos hábitos de alimentación y escaso ejercicio físico. Los criterios para el diagnóstico de esta enfermedad según la Organización Mundial de la Salud requieren la presencia de diabetes mellitus, tolerancia anormal a la glucosa, glucemia de ayuno anormal o resistencia a la insulina, con la presencia de dos de los siguientes:

- Presión arterial $\geq 140/90$ mmHg
- Dislipidemia: triglicéridos (TG): ≥ 1.695 mmol/L y/o colesterol HDL (HDL-C) ≤ 0.9 mmol/L (en hombres), ≤ 1.0 mmol/L (en mujeres)
- Obesidad central: relación cintura/cadera $> 0.90m$ (en hombres), $> 0.85m$ (en mujeres), y/o índice de masa corporal (IMC) > 30 kg/m²
- Microalbuminuria: excreción urinaria de albúmina ≥ 20 mg/min o relación albúmina/creatinina en orina ≥ 30 mg/g.

Uso cosmecéutico

El cultivo en medio líquido (o cultivo sumergido) de *Grifola frondosa* recientemente desarrollado ha abierto nuevas oportunidades para la explotación económica de Maitake. Normalmente el objetivo de estos procesos es producir polisacáridos extracelulares (PSE), principalmente glucanos, y explorar sus aplicaciones, particularmente en la industria cosmética (Sang y col., 2007). Una gran variedad de PSE con diferentes longitud de cadena molecular y composición química se producen bajo diferentes condiciones de cultivo. Se estudiaron varias propiedades biológicas y fisicoquímicas de los PSE de *G. frondosa* (PSE-GF) desde el objetivo de sus posibles aplicaciones en el área cosmecéutica funcional. Los PSE-GF juntos con el extracto micelial del hongo (PSM-GF), mostraron actividad antioxidante, estimularon la actividad biosintética de colágeno y la proliferación celular, e inhibieron la actividad de melanogénesis, sin producir citotoxicidad significativa. Esta funcionalidad diversa sugiere que tanto los PSE-GF como los PSM-GF son potenciales ingredientes cosméticos.

Ya en el 2003, Cognis Corporation (PA, EEUU) había hecho una solicitud de patente “*Use of Grifola frondosa fungus extracts*”, donde reclama el uso de extractos del hongo *Grifola frondosa* i) en las preparaciones cosméticas y/o dermatológicas para el cuidado de la piel, ii) en las preparaciones para el cuidado y la protección regenerativa por estimulación del metabolismo de las células de la piel con una actividad revitalizadora y reactivadora, iii) en las preparaciones del cuidado de la piel por estimulación de su defensa inmune, iv) en las preparaciones cosméticas y/o dermatológicas para el cuidado de la piel por estimulación de la síntesis de macromoléculas dérmicas como el colágeno, elastina, fibronectina, proteoglicanos y del ácido hialurónico, v) en las preparaciones cosméticas y/o dermatológicas para el tratamiento preventivo o curativo de señales de envejecimiento de la piel, vi) de manera similar a las anteriores para el tratamiento del envejecimiento de la piel inducido por radiación ultravioleta, vii) como parte de una preparación anti-inflamatoria cosmética y/o dermatológica para el cuidado de la piel, viii) de la misma manera para el tratamiento de la inflamación de la piel causada por radiación de UV o contaminación, ix) para el tratamiento de los cambios de la piel inducidos bacterial y hormonalmente, por ejemplo el acné, x) en las preparaciones cosméticas y/o dermatológicas para el cuidado de la piel sensible, xi) en las preparaciones cosméticas y/o dermatológicas para el mejoramiento de la curación de heridas, xii) como componente en las preparaciones cosméticas y/o dermatológicas para la protección a la exposición solar.

En un estudio reciente acerca de la bioacumulación de cobre y cinc por micelio de *Grifola frondosa* cultivado en medio nutritivo líquido agitado en presencia de altas concentraciones de uno u otro de esos elementos y de la biodisponibilidad resultante de los mismos obtenida del micelio enriquecido resultante, se encontró - a una dosis no micotóxica (200 ppm) de los elementos - que el hongo podía acumular 30 y 16 veces Cu y Zn en relación al micelio del hongo cultivado en medio nutritivo control. Por otro lado, la solubilidad de ambos, i.e. su biodisponibilidad potencial, resultante de un ensayo de digestión *in vitro* simulada, fue 33 % (Cu) y 3,5% (Zn) de la Ingesta Diaria Recomendada, por gramo de micelio seco (Figlas y col., 2009). La habilidad para el secuestro de estos elementos plantea el interrogante sobre la posible presencia de metaloproteínas de Cu y Zn en el micelio de *G. frondosa* enriquecido con estos elementos y enfatizan la necesidad de investigación adicional en la aplicación cosmeceútica del micelio de este hongo enriquecido con estos elementos.

Otras posibilidades de uso terapéutico de Maitake

Desde hace mucho tiempo los japoneses han utilizado al fruto de Maitake como un tónico o adaptógeno. Los médicos que han comenzado a usar el Maitake en su práctica clínica han informado sobre los efectos beneficiosos en el síndrome de fatiga crónica (Weil: drweil.com/archiveqa/0,2283,17,00.html), en infecciones vaginales persistentes por *Candida albicans* (Christens: planetbotanic.com/thrushtrial.htm), y en fibroides uterinos (Chichoke, 1994). Los estudios realizados con Maitake entero en polvo y otras formas del hongo durante los últimos 25 años sugieren que este hongo también puede jugar un papel beneficioso en el tratamiento de otras enfermedades.

XVI. DOSIFICACIÓN, FORMAS GALÉNICAS Y ADVERTENCIAS DE USO

Las investigaciones futuras pueden ayudar a clarificar los problemas relacionados a la dosificación. Los datos obtenidos en animales alimentados con un 5-20% de Maitake (en peso) en la dieta son difíciles de aplicar a los humanos, porque no podrían mantener semejante dieta rica en Maitake. Un estudio reciente en ratones autoinmunes investigó la eliminación (*clearance*) en sangre de dos tipos de glucanos (GRN de *Grifola frondosa* y SSG de *Sclerotinia sclerotiorum*) luego de dosis múltiples. Los ratones recibieron 0,25 mg una vez por semana en forma intraperitoneal durante 35 semanas. Las concentraciones de glucano en sangre fueron elevadas (aproximadamente 0,02 mg/mL para GRN y 0,20 mg/mL para SSG). Los investigadores concluyeron que estos resultados sugieren que la administración de una

cantidad grande de glucano satura el sistema reticulo-endotelial resultando en la circulación del glucano en la sangre (Miura y col., 1996).

Hobbs (1995) establece que la dosis oral de la fracción D de Maitake que es efectiva como agente antitumoral e inmunopotenciador en ratones es de aproximadamente 0.75 mg/kg de peso del ratón. Considera que aunque es difícil comparar la actividad en ratones con humanos, asumiendo la misma actividad, significaría que una dosis comparable de la fracción D, presente en 4 mg/g de fruto de Maitake, es 47,25 mg para una persona de 70 Kg, y esa cantidad está presente en unos 12 g de fruto de Maitake.

Un fabricante del producto dice que las dosis terapéuticas de la fracción D del Maitake son de 0,5 a 1,0 mg/kg de peso del cuerpo por día. Esto representa una dosis diaria aproximada de 35-70 mg de fracción D para una persona de 70 Kg de peso. Las preparaciones comerciales de las fracciones D y MD glucano generalmente proveen 3-25 mg del extracto estandarizado junto con 75-250 mg del polvo seco del fruto entero, por cápsula. Las cápsulas del polvo entero están en el orden de 100-500 mg. Los extractos líquidos también están disponibles, algunos estandarizados por ejemplo para 1 mg de fracción D por gota. Algunos productos en cápsula también son concentrados y estandarizados para un mínimo (por ejemplo 30%) de polisacáridos, incluyendo la fracción D del beta-glucano.

En distintos sitios de Internet pueden encontrarse preparaciones de la fracción D, como ser Grifron-Pro Maitake D Fraction Liquid (http://www.betterlife.com/prod_home_page.asp?prod_id=487&source=infgoogle), que contiene por cada dosis (6 gotas) 22 mg de un extracto del hongo Maitake (PD-Fraction™, estandarizado para contener 30% del proteoglucano activo); otros ingredientes son agua y glicerina vegetal. La indicación de uso es una ingesta de 6 gotas tres veces al día o según criterio médico, recomendándose para un beneficio óptimo 1 gota por cada kg de peso diariamente, en tres tomas. El producto se vende en frascos goteros de 270 dosis de 6 gotas, no contiene alcohol, azúcar, levadura, mohos, productos lácteos, colorantes artificiales o preservantes y su valor en el mercado americano es de 60-90 dólares. Asimismo, ésta y otras fracciones del proteoglucano de *G. frondosa* pueden encontrarse en el mercado en la forma de tabletas, cada fórmula con la propia indicación ([http://www.thefind.com/beauty/browse-maitake-mushroom-\(-grifron-\)-tablet-vitamins](http://www.thefind.com/beauty/browse-maitake-mushroom-(-grifron-)-tablet-vitamins)).

El Maitake puede influenciar favorablemente al menos cuatro parámetros clínicos del síndrome metabólico (con protección cardiovascular): el nivel glicémico, la tasa de colesterol, el peso y la presión sistólica. La modalidad de empleo más práctica y eficaz son las cápsulas de polvo de Maitake entero o de las sustancias naturales conteniendo todas las fracciones farmacológicamente activas. Las dosis usuales son de 300 mg, o una cápsula en alguna de las

comidas. Debe suministrarse por lo menos durante 3 meses para observar los efectos en los parámetros de laboratorio (Bianchi, 2008).

Las dosis típicas para la prevención de enfermedades - recomendada en las etiquetas de los productos - van de 12-25 mg de extracto/200-250 mg de polvo entero, y 500-2.500 mg de polvo entero.

En general no existen informes o trabajos en publicaciones científicas sobre efectos colaterales negativos del Maitake en las dosis recomendadas e incluso con el consumo del hongo fresco en cantidades razonables.

En su sitio de Internet, MedlinePlus (<http://www.enotalone.com/article/9345.html>) recopila información de agencias gubernamentales de salud de buena reputación (NLM, NIH entre otras) y en lo referente a productos de *Grifola frondosa* se refiere a su estandarización, ingesta en adultos y jóvenes menores de 18 años, seguridad (alergias, efectos secundarios y advertencias) e interacciones (con drogas, hierbas y suplementos dietarios). Respecto de la estandarización sobre los compuestos bioactivos del producto, necesaria para considerar la similitud de diferentes preparaciones, y en el caso de los productos con Maitake estandarizado, ellos no están ampliamente disponibles, y las cantidades de los beta-glucanos pueden variar entre preparaciones. Diferentes componentes pueden ser preparados desde Maitake por procesos estandarizados, pero ellos no necesariamente pueden tener los mismos efectos.

En relación a la edad, como no existen muchos estudios en humanos, no es conocido qué dosis son seguras o efectivas, por ello no se recomienda la toma de cualquier forma del hongo, entero, en cápsulas, tabletas o extracto líquido por menores de 18 años. Para los mayores, la dosificación fue dada anteriormente.

Por otra parte, en lo que a seguridad se refiere, se informó un caso de neumonitis alérgica por hipersensibilidad al hongo. Ya que el Maitake fue consumido como alimento por el hombre, se piensa que las dosis bajas son seguras. Como reduce la tensión arterial, deben ser cautelosos los individuos que toman antihipertensivos; asimismo como el Maitake también reduce el nivel de azúcar en sangre, deben ser precavidos aquellos individuos con diabetes o hipoglucemia y aquellos que ingieren drogas, hierbas o suplementos que afectan la glucosa sanguínea, debiendo monitorear el nivel de glucemia y ajustar la medicación según resulte necesario. No se conoce sobre la seguridad del Maitake durante el embarazo y la lactancia, por lo tanto su ingesta no es recomendable en esos estados. En cuanto a las interacciones con drogas, hierbas o suplementos para el control de la glucemia y de la presión sanguínea, ello debería conversarse con un profesional médico para discutir el uso del Maitake.

Como ejemplos de hierbas y suplementos que pueden afectar los niveles de azúcar en sangre se pueden citar: *Aloe vera*, ginseng americano, arándano, melón amargo, bardana, fenogreco, aceite de pescado, gymnema, extracto de la semilla de castaña de Indias, cardo de leche, *Panax ginseng*, ginseng siberiano (*Eleutherococcus senticosus*), romero, ortiga, y marrubio (*Marrubium vulgare* L.).

También se recomienda precaución al combinar Maitake con otras hierbas que pueden modificar la presión sanguínea. Algunos ejemplos incluyen aconite (*Aconitum napellus*), árnica, *Actaea sp.*, nuez de la palma betel (*Areca catechu*), arándano, cimicífuga o cohosh negro (*Cimicifuga racemosa*), nueza blanca (*Bryonia sp.*), caléndula, amapola de California, coleus, eucaliptol, aceite del eucalipto, ajo, gengibre, ginkgo, *Hydrastis canadensis*, eléboro verde (*Helleborus viridis*), majuelo (*Crataegus monogyna*), tabaco indio (*Lobelia inflata*), jaborandi (*Pilocarpus jaborandi*), muérdago, reina de la noche (*Epiphyllum oxypetalum*), adelfa (*Neriun oleander*), pulsatilla (*Pulsatilla vulgaris*), pervinca (*Vinca minor* L.), asclepias (*Asclepias tuberosa*, *Asclepias texana*), bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*), curcumina y cúrcuma (*Curcuma sp.*) y cereza salvaje.

XVII. STATUS LEGAL

En el año 2007 el Secretario de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias y el de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos del Ministerio de Salud, Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias de Argentina, entienden sobre el tema del registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, en particular en la necesidad de actualizar las normas que regulan los hongos comestibles contenidas en el Código Alimentario Argentino, habiendo acordado la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL) (Acta N° 642005) con el Grupo Ad Hoc Especies Vegetales, la necesidad de proceder a actualizar la regulación contenida en el Artículo 1249 y, después de seguir los pasos procesales (evaluación por parte de la Comisión Nacional de Alimentos e intervención de los Servicios Jurídicos Permanentes de los Organismos involucrados) resuelven, en su artículo primero incorporar el Artículo 891 al Código Alimentario Argentino“Con la denominación de hongos comestibles, se entiende el cuerpo fructífero de hongos superiores pertenecientes al Reino Fungi (Ascomycetes y Basidiomycetes) silvestres o de cultivo y que frescos, secos o en conserva, se emplean en alimentación humana”, y el género *Grifola* aparece junto con otros géneros de hongos en el apartado que corresponde a la clasificación de los hongos por su origen, en este caso Hongos comestibles de cultivo, que define como ... “aquéllos que se obtienen mediante prácticas de producción sembrando el micelio en sustratos

específicos, debidamente pasterizados o esterilizados”..., haciendo especial referencia a *Grifola frondosa*, comercialmente conocido como Maitake.

Asimismo, este artículo los clasifica por calidad, tratamientos post-cosecha, incluyendo el envasado y formas de preservación y también define las formas de comercialización.

XVIII. REFERENCIAS

- Adachi K, Nanba H, Otsuka M, Kuroda H. 1988. Blood pressure-lowering activity present in the fruit body of *Grifola frondosa* (maitake):I. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 36: 1000-1006
- Bae J, Sim G, Lee D, Lee B, Pyo H, Choe T, Yun J. 2005. Production of exopolysaccharide from mycelial culture of *Grifola frondosa* and its inhibitory effect on matrix metalloproteinase 1 expression in UV-irradiated human dermal fibroblasts. FEMS Microbiology Letters 251: 347-354
- Bae JT, Park JP, Song CH, Yu CB, Park MK, Yun JW. 2001. Effect of carbon source on the mycelial growth and exo-biopolymer production by submerged culture of *Paecilomyces japonica*. Journal of Bioscience and Bioengineering 91: 522-524
- Bae JT, Sinha J, Park JP, Song CH, Yun JW. 2000. Optimization of submerged culture conditions for exo-biopolymer production by *Paecilomyces japonica*. Journal of Microbiology and Biotechnology 10: 482-487
- Bianchi I. 2008. Maitake. International Mycotherapy Institute, Boletín 2 (1): 4-6
- Borchers AT, Stern JS, Hackman RM, Keen CL, Gershwin EM. 1999. Mushrooms, tumors, and immunity. Society for Experimental Biology and Medicine 221: 281-293
- Borchers A, Keen C, Gershwin M. 2004. Mushrooms, Tumors and Immunity: An Update. Experimental Biology and Medicine. 229: 393-406
- Chalmers W. 1994. Cultivation of the Maitake mushroom. Mushroom World (June)
- Chang ST, Buswell JA. 1999. *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P.Karst. (Aphyllophoromycetidae) - a mushrooming medicinal mushroom. International Journal of Medicinal Mushrooms 1:139-148
- Chang ST. 1999. Global impact of edible and medicinal mushrooms on the human welfare in the 21 century: the non-green revolution. Intl. J. Medicinal Mushrooms 1: 1-7
- Chen AW. 1998. A practical guide for synthetic-log cultivation of *Grifola frondosa* (Maitake). UNICORN Imp. Mfg. Corp.
<http://www.unicornbag.com/cultivation/grfr/chen.shtml>
- Chichoke A. 1994. Maitake- the king of mushrooms. Townsend Letter for Doctors 130: 432-433
- Chihara G, Maeda Y, Hamuro J, Sasaki T, Fukuoka F. 1969. Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. Nature 222: 687-688
- Chihara, G. 1992. Recent progress in immunopharmacology and therapeutic effects of polysaccharides. Developments in Biological Standardization 77: 191-197
- Chiu GP, Sun PL, Chong SH. 1998. High-yield cultivation of *Grifola frondosa* and nutritional analysis. Journal of Edible Fungi of China 17:31-33
- Christens R, Schar D, Turner D. An evaluative study of the effectiveness of a strain of *Grifola frondosa* (maitake) against persistent vaginal *Candida albicans* proliferation (thrush). (Unpublished): planetbotanic.com/thrushtrial.htm.

- Corner EJH. 1989. Beihefte zur Nova Hedwigia, Heft 96: Ad Polyporaceas V. In. J. Cramer, Berlin, 62-68
- Cui FJ, Li Y, Xu YY, Liu ZQ, Huang DM, Zhang ZC, Tao WY. 2007. Induction of apoptosis in SGC-7901 cells by polysaccharide-peptide GFPS1b from the cultured mycelia of *Grifola frondosa* GF9801. *Toxicology In Vitro* 21: 417-27
- Cui J, Chisti Y. 2003. Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: Physiological activity, uses, and production. *Biotechnology Advances* 21: 109-122
- Cunningham GH. 1965. Polyporaceae of New Zealand, New Zealand Department of Scientific and Industrial Research, Bulletin 164:1-304
- Cuzzocrea S, Riley D, Caputi A, Salvemini D. 2001. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacology Reviews* 53: 135-139
- Dickson J. 1785. Fasciculus Plantarum Cryptogamicarum. Britanniae 18
- Donk MA. 1974. Check List of European Polypores. *Verhand kon Nederl. Adak. Wetsch afd. Nat.II.* 62: 234-237, 266-278
- Draeos ZD. 2005. The Future of Cosmeceuticals: An Interview with Albert Kligman. *Dermatology Surgery* 31: 890-891
- Fang QH, Zhong JJ. 2002. Two-stage culture process for improved production of ganoderic acid by liquid fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum*. *Biotechnology Progress* 18: 51-54
- Farr DF, Bills GF, Chamuris GP and Rossman AY. 1989. *Fungi on Plants and Plant Products in the United States*. APS Press, St. Pal, Minnesota, USA.
- Feeney MJ. 2006. Optimizing Vitamin D2 in mushrooms; Pilot study to expose mushrooms to ultraviolet light. *Mushroom News* 54(5): 2-24
- Figlas, D, Oddera, M, Curvetto N. 2009. Bioaccumulation and Bioavailability of Copper and Zinc on Mineral-Enriched Mycelium of *Grifola frondosa*. *Journal of Medicinal Food* (En prensa)
- Ford ES, Giles WH, Dietz WH. 2002. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.* 287: 356-359
- Fries E. 1821. In *Systema Mycologicum: Sistens Fungorum Ordines, Genera et Species, Huc U.S. que Cognitas, Quas ad Normam Methodi Naturalis Determinavit, Disposuit Atque Descripsit.*, Lundae: ex officina Berlingiana, Vol. 1-4
- Fukushima M, Ohashi T, Fujiwara Y, Sonoyama K, Nakano M. 2001. Cholesterol lowering effects of Maitake (*Grifola frondosa*) fiber, Shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and Enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Experimental Biology and Medicine* 226: 758-765
- Fullerton SA, Samadi AA, Tortorelis DG, Mallouh C, Tazaki H, Kunno S. 2000. Induction of apoptosis in human prostatic cancer cells with beta-glucan (maitake mushroom polysaccharide). *Molecular Urology* 4(1): 7-13
- GenBank®. 2001. National Center for Biotechnology Information (NCBI).
- Gilbertson RL, Ryvarden L. 1987. *North American Polypores: Vol. I and II.* FungiFlora, Oslo, Norway.
- Gray, S.F. 1821. *A Natural Arrangement of British Plants, Vol 1.* Printed for Baldwin, Cradock and Joy. London. Pp. 643
- Harada N, Kodama N, Nanba H. 2003. Relationship between dendritic cells and the D-fraction-induced Th-1 dominant response in BALB/c tumor-bearing mice. *Cancer Letters* 192(2):181-7
- Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DN. 1995. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi.* 8th ed. CAB International.

- Hawksworth DL. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research* 95: 641-655
- Hawksworth DL. 2001. Mushrooms: The extent of the unexpected potential. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 3: 333-337
- Hiroshi S, Takeda M. 1993. Diverse biological activity of PSK (Krestin), a protein bound polysaccharide from *Coriolus versicolor* (Fr.) Quel. In: Chang ST, Buswell JA, Chiu SW, *et al*, editors. *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Hong Kong: Chinese University Press. 237-245
- Hishida I, Nanba H, Kuroda H. 1988. Antitumor activity exhibited by orally administered extract from fruit body of *Grifola frondosa* (Maitake). *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 36: 1819-1827
- Hobbs C. 1995. *Grifola frondosa* monograph. Santa Cruz, CA: Botanica Press 110-115
- Huang NL. 1987. *Grifola frondosa*. In Huang, NL (ed.) *Edible Fungi*. Nanjing University Press, Nanjing, China. 677-681
- Huang NL. 1993. The Cultivation of *Grifola frondosa*. In Huang NL (ed.): *The Encyclopedia of chinese edible fungi*. Beijing, China. The Agricultural Press 275-276
- Huang NL. 1997. Japanese *Grifola frondosa*. In Huang NL. (ed.): *Cultivation of eighteen precious and delicious edible fungi*. Beijing, China. The Agricultural Press 145-153
- Huang SJ, Huang LC, Chen CC. 1999. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*. *World Society for Mushroom Biology and Mushroom Products*. Pp.10.
http://www.worldmushroomsociety.com/research/r_list.asp?so=writer&sk=ShihJeng%20Huang
- Ikekawa T, Uehara N, Maeda Y, Nakanishi M, Fukuoka F. 1969. Antitumor activity of aqueous extracts of edible mushrooms. *Cancer Research* 29: 734-735
- Jones K. 1998. Maitake: A potent medicinal food. *Alternative and Complementary Therapies* 4: 420-429
- Jong SC, Birmingham JM, Pai SH. 1991. Immunomodulatory substances of fungal origin EOS- *Journal of Immunology and ImmunoPharmacology* 11: 115-122
- Jülich W. 1981. *Higher Taxa of Basidiomycetes*. J. Cramer, Berlin.
- Kabir Y, Hoshino T, Komai M, Kimura S. 1989. Histopathological changes in spontaneously hypertensive rats after feeding shiitake (*Lentinus edodes*) and maitake (*Grifola frondosa*) mushroom diets. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 6: 187-193
- Kabir Y, Kimura S. 1989. Dietary mushrooms reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 35: 91-94
- Kabir Y, Yamaguchi M, Kimura S. 1987. Effect of shiitake (*Lentinus edodes*) and maitake (*Grifola frondosa*) mushrooms on blood pressure and plasma lipids of spontaneously hypertensive rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 33: 341-346
- Keller T. 2000. Compounding with β -1,3-D-Glucan. *International Journal of Pharmaceutical Compounding* 4: 342-345
- Kim SW, Hwang HJ, Park JP, Cho YJ, Song CH, Yun JW. 2002. Mycelial growth and exo-biopolymer production by submerged culture of various edible mushrooms under different media. *Letters in Applied Microbiology* 34: 56-61
- Kim SY, Kim JH, Kim SK, Oh MJ, Jung MY. 1994. Antioxidant activities of selected oriental herb extracts. *Journal of American Oil Chemical Society* 71: 633-640
- Kirchhoff B. 1996. Investigations of genotypes and substrates for the fruiting body production of *Grifola frondosa* (Dick. : Fr.). In Royse D J (ed.) *Mushroom Biology and Mushroom Products*. State College, PA, Penn State University Press 432-441
- Kodama N, Asakawa A, Inui A, Masuda Y, Nanba H. 2005. Enhancement of cytotoxicity of NK cells by D-Fraction, a polysaccharide from *Grifola frondosa*. *Oncology Reports* 13: 497-502

- Kodama N, Komuta K, Nanba H. 2003. Effect of Maitake (*Grifola frondosa*) D-Fraction on the activation of NK cells in cancer patients. *Journal of Medicinal Food* 6: 371-377
- Kodama N, Komuta K, Sakai N, Nanba H. 2002. Effects of D-Fraction, a polysaccharide from *Grifola frondosa* on tumor growth involve activation of NK cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 25: 1647-1650
- Kodama N, Kouta K, Saki N, Nanba H. 2002. Effects of D-Fraction, a polysaccharide from *Grifola frondosa* on tumor growth involved activation of NK cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 25:1647-1650
- Konno S. 2002. Maitake D-Fraction: A promising natural agent for alternative cancer treatment. *The Original Internist* (Sept) 44-49
- Konno S. 2004. Potential anticancer effect of Maitake D-Fraction on canine cancers. *Companion Animal Practice* (March).
- Koyyalamudi SR, Jeong SC, Song CH, Cho KY, Pang G. 2009. Vitamin D2 formation and bioavailability from *Agaricus bisporus* button mushrooms treated with ultraviolet irradiation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(8): 3351-3355
- Kubo K, Aoki H, Nanba H. 1994. Anti-diabetic activity present in the fruit body of *Grifola frondosa* (maitake).I. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 17: 1106-1110
- Kubo K, Nanba H. 1996a. Antidiabetic mechanism of maitake (*Grifola frondosa*). In: Roysse DJ, ed. *Mushroom Biology and Mushroom Products*. University Park, PA: Penn State University. 215-221
- Kubo K, Nanba H. 1996b. The effect of maitake mushrooms on liver and serum lipids. *Alternative Therapies in Health and Medicine* 2: 62-66
- Kubo K, Nanba H. 1997. Anti-hyperliposis effect of maitake fruit body (*Grifola frondosa*).I. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 20: 781-785
- Kubo K, Nanba H. 1998. Modification of cellular immune responses in experimental autoimmune hepatitis in mice by maitake (*Grifola frondosa*). *Mycoscience* 39: 351-360
- Lee B, Bae J, Pyo H, Choe T, Kim S, Hwang J, Yun J. 2003. Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. *Enzyme and Microbial Technology* 32: 574-581
- Lee BC, Jun TB, Hyeong BP, Choe TB, Sang WK, Hye JH, Jong WY. 2004. Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. *Enzyme and Microbial Technology* 35: 369-376
- Lee E. 1994. Production of Shiitake, Oyster and Maitake in Connecticut. *Mushroom News* 42: 11-14
- Lee E. 1996. Production of Shiitake and Maitake Mushrooms in Connecticut. *Mushroom News* 44: 6-11
- Lee JS, Park BC, Ko YJ. 2008. *Grifola frondosa* (maitake mushroom) water extract inhibits vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis through inhibition of reactive oxygen species and extracellular signal-regulated kinase phosphorylation. *Journal of Medicinal Food* 11: 643-651
- Lieberman S, Babal K. 1997. Maitake: King of Mushrooms. The amazing broad-range healing powers of an ancient food and remedy. Keats Publishing, New Canaan, CT, p. 18
- Lin JT, Liu WH. 2006. o-Orsellinaldehyde from the submerged culture of the edible mushroom *Grifola frondosa* exhibits selective cytotoxic effect against Hep 3B cells through apoptosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 4: 7564-7569
- Lindequist U, Niedermeyer THJ, Jülich WD. 2005. The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine (eCAM)* 2: 285-299
- Liu F, Ooi VEC, Chang ST. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Science* 64: 1005-1011

- Lorenzen K, Anke T. 1998. Basidiomycetes as a source for new bioactive natural products. *Current Organic Chemistry* 2: 329-364
- Mau JL, Chao GR, Wu KT. 2001. Antioxidant properties of methanolic extracts from several ear mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5461-5467
- Mau JL, Lin HC, Chen CC. 2002a. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6072-6077
- Mau JL, Lin HC, Song SF. 2002b. Antioxidant properties of several speciality mushrooms. *Food Research International* 35, 519-526
- Mayell M. 2001. Maitake extracts and their therapeutic potential - A Review. *Alternative Medicinal Review* 6: 48-60
- Melzig MF, Pieper S, Siems WE, Heder G, Bottger A, Liberra K. 1996. Screening of selected basidiomycetes for inhibitory activity on neutral endopeptidase (NEP) and angiotensin-converting enzyme (ACE). *Pharmazie* 51: 501-503
- Miura NN, Ohno N, Aketagawa J, Tamura H, Tanaka S, Yadomae T. 1996. Blood clearance of (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan in MRL lpr/lpr mice. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 13(1): 51-57
- Mizuno T, Saito H, Nishitoba T, Kawagashi H. 1995. Antitumoractive substances from mushrooms. *Food Reviews International* 11: 23-61
- Mizuno T, Zhuang C. 1995. Maitake, *Grifola frondosa*: Pharmacological Effects. *Food Reviews International* 11: 135-149
- Mizuno T. 1996. Development of antitumor polysaccharides from mushroom fungi. *Foods and Food Ingredients Journal of Japan* 167: 69-85
- Mizuno T. 1999a. The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 9-30
- Mizuno T. 1999b. Bioactive substances in *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Yamabushitake), and its medicinal utilization. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 105-119
- Mizuno T. 2002. Medicinal properties and clinical effects on *Agaricus blazei* Murr. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 4: 112-125
- Mueller A, Raptis J, Rice P, Kalbfleisch J, Stout R, Ensley H, Browder W, Williams D. 2000. The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. *Glycobiology* 10(4): 339-346
- Nanba H, Hamaguchi A, Kuroda H. 1987. The chemical structure of an antitumor polysaccharide in fruit bodies of *Grifola frondosa* (Maitake). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)* 35: 1162-1168
- Nanba H, Kodama N, Schar D, Turner D. 2000. Effects of Maitake (*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. *Mycoscience* 41: 293-295
- Nanba H. 1993. Antitumor activity of orally administered D-fraction from Maitake mushrooms (*Grifola frondosa*). *Int. Journal of Naturopathic Medicine* 1: 10-15
- Nanba H. 1995. Activity of Maitake D-fraction to inhibit carcinogenesis and metastasis. *Annals New York Academy of Science* 768: 243-245
- Nanba H. 1997a. Effect of Maitake D-fraction on cancer prevention. *Annals New York Academy of Science* 833: 204-207
- Nanba H. 1997b. Maitake D-fraction: healing and preventive potential for cancer. *Journal of Orthomolecular Medicine* 12: 43-49
- NCI. 1992. National Cancer Institute. In-vitro Anti HIV Drug Screening Results, Developmental Therapeutics Program, Jan. 17, 1992 (Unpublished)
- Ohno N, Iino K, Takeyama T, Suzuki I, Sato K, Oikawa S, Miyazaki T, Yadomae T. 1985. Structural characterization and antitumor activity of the extracts from matted mycelium of cultured *Grifola frondosa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)* 33: 3395-3401

- Ohtsuru M. 1992. Anti-obesity activity exhibited by orally administered powder of maitake mushroom (*Grifola frondosa*). Anshin July198-200 [in Japanese]
- Ooi VEC, Liu F. 1999. A review of pharmacological activities of mushroom polysaccharides. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 195-206
- Park JP, Kim SW, Hwang HJ, Yun JW. 2001. Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*. *Letters in Applied Microbiology* 33: 76-81
- Park JP, Kim YM, Kim SW, Hwang HJ, Cho YJ, Lee YS, Song CH, Yun JW. 2002. Effect of aeration rate on the mycelial morphology and exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris*. *Process Biochemistry* 37:1257-1262
- Rajchenberg M. 2002. The genus *Grifola* (Aphyllophorales, Basidiomycota) in Argentina revisited. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37:19-27
- Rau U, Kuenz A, Wray V, Nimtz M, Wrenger J, Cicek H. 2009. Production and structural analysis of the polysaccharide secreted by *Trametes (Coriolus) versicolor* ATCC 200801. *Applied Microbiology and Biotechnology* 81(5): 827-837
- Rauschemberger M, Polini N, Bennozzi S, Cutini P, Sellés J, Massheimer V. 2005. Impacto vascular de los fitoestrógenos. *Medicina (Buenos Aires)* 65: 9-182
- Reshetnikov SV, Wasser SP, Tan KK. 2001. Higher Basidiomycota as a source of antitumor and immunostimulating polysaccharides. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 3: 361-394
- Royse DJ, Guardino J. 1997. Specialty mushrooms: Enokitake and Maitake. 45: 28-31
- Sang WK, Hwang HJ, Lee BC, Yun JW. 2007. Submerged production and characterization of *Grifola frondosa* polysaccharides – A New Application to Cosmeceuticals. *Food Technology and Biotechnology* 45(3): 295-305
- Schepetkin IA, Quinn MT. 2006. Botanical polysaccharides: Macrophage immunomodulation and therapeutic potential. *International Immunopharmacology* 6: 317-333
- Sellés J, Polini N, Álvarez C, Massheimer V. 2001. Progesterone and 17 β -estradiol acutely stimulate nitric oxide synthase activity in rat aorta and inhibit platelet aggregation. *Life Sciences* 69: 815-827
- Sellés J, Polini N, Álvarez C, Massheimer V. 2002. Nongenomic action of progesterone in rat aorta: Role of nitric oxide and prostaglandins. *Cellular Signalling* 14: 431-436
- Sellés J, Polini N, Álvarez C, Massheimer V. 2005. Novel action of estrone on vascular tissue: regulation of NOS and COX activity. *Steroids* 70: 251-256
- Sharon N, Lis H. 1993. Carbohydrates in cell recognition. *Scientific American (January)*: 74-81
- Shen Q, Royse D J. 2002. Effects of genotypes of maitake (*Grifola frondosa*) on biological efficiency, quality and crop cycle time. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58: 178-182
- Shen Q. 2001. Molecular phylogenetic analysis of *Grifola frondosa* (Maitake) and related species and the influence of selected nutrient supplements on mushroom yield. *Plant Pathology*. The Pennsylvania State University, Pennsylvania. Pp. 144.
- Shirota M. 1996. What you should know about Medicinal Mushrooms. *Explore* 7(2): 48-52
- Simic MG. 1988. Mechanisms of inhibition of free-radical processed in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research* 202: 377-386
- Singer R. 1969. *Mycoflora Australis*. Lehr: Cramer.
- Sinha J, Bae JT, Park JP, Song CH, Yun JW. 2001. Effect of substrate concentration on broth rheology and fungal morphology during exobiopolymer production by *Paecilomyces japonica* in a batch bioreactor. *Enzyme and Microbial Technology* 29: 392-399
- Smith JE, Rowan NJ, Sullivan R. 2002. Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments.

- <http://science.cancerresearchuk.org/globalnav/contactus> or E.S.Clements@strath.ac.uk or richard.sullivan@cancer.org.uk.
- Stamets P, Chilton JS. 1983. Grain culture. Pp 41-59. En: The Mushroom Cultivator. Olympia, Washington. Agarikon Press.
- Stamets P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Berkeley, CA: Ten Speed Press
- Stampfer M, Colditz G. 1991. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Preventive Medicine* 20: 47-63
- Su JD. 1992. Investigation of antioxidative activity and tocopherol contents on Chinese crude drugs of fruits and seeds. *Food Science* 19: 12-24
- Tsai SY. 2002. Antioxidant properties and their cytotoxic activities on tumor cells of *Ganoderma tsugae* and *Agrocybe cylindracea* and antimutagenic properties of *Agrocybe cylindracea*. Master's Thesis, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan.
- Tzianabos AO. 2000. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biological function. *Clinical Microbiology Reviews* 13: 523-533
- Wallace GM. 1971. Studies on the processing and properties of soymilk. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 22:526-535.
- Wasser SP, Weis AL. 1999. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Critical Reviews in Immunology* 19(1): 65-96
- Wasser SP. 2002. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology* 60: 258-274
- Weil A. Help for chronic fatigue (Unpublished). En [drweil.com/archiveqa/ 0,2283,17,00.html](http://drweil.com/archiveqa/0,2283,17,00.html).
- Wu JL, Lin G Z, Fu MZ, Wei ZC. 1997. *Grifola frondosa*. Huang, NL (ed.) Cultivation of eighteen precious and delicious chinese edible fungi. Beijing, China. The Agricultural Press. 130-145
- Wu S, Zou D, Han SH. 1994. Therapeutic effect of *Grifola* polysaccharides in chronic hepatitis B [abstract P-18]. In: International Symposium on Production and Products of Lentinus Mushroom, Qingyuan, Zhejiang Province, China: International Society for Mushroom Science.
- Yang JH, Lin HC, Mau JL. 2002. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chemistry* 77: 229-235
- Yap AT, Ng MLM. 2001. An improved method for the isolation of lentinan from the edible and medicinal shiitake mushroom, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Agaricomycetidae). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 3: 6-19
- Yokota M. 1992. Observatory trial of anti-obesity activity of maitake mushroom (*Grifola frondosa*). Anshin July 202-203 [in Japanese]
- Zakany J, Chihara G, Facht J. 1980a. Effect of Lentinan on tumor growth in murine allogeneic and syngeneic host. *International Journal of Cancer* 25: 371-376
- Zakany J, Chihara G, Facht J. 1980b. Effect of Lentinan on the production of migration inhibitory factor induced by syngeneic tumor in mice. *International Journal of Cancer* 26: 783-788
- Zhang Y, Mills G, Nair MG. 2002. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant compounds from the mycelia of the edible mushroom *Grifola frondosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 7581-7585
- Zhao J, Zhang J. 1992. The Polypores of China. J. Cramer, Berlin.
- Zhuang C, Mizuno T. 1999. Biological responses from *Grifola frondosa* (Dick.: Fr.) S.F. Gray –Maitake (Aphyllorphomycetidae). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 317-324

