

Biostymulujące właściwości entomopatogenicznych grzybów z rodzaju *Cordyceps*

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu
Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. Grzegorz Szychalski

BIOSTIMULATING ACTIVITY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI OF THE GENUS *CORDYCEPS*

SUMMARY

Since more than thousands years, on Tibetan Plateau, a rare and exotic fungus has been prepared as a medicine for weakness and lowered libido, heart, kidney and lung diseases. The main function shall be immune biostimulating action and antitumor activity. However, recent studies showed that many of supplements have no activity toward low energy level, asthma or cancer. Biocompounds isolated from fungus grown in bioreactors are active against tumors and hypoglycemia. These two areas are being intensively investigated. Cordycepin, adenosine, polysaccharides and other secondary metabolites obtained in the bioreactors, are subjects of particular interest. There are proved scientific informations, which indicate that *Cordyceps* species possess desired pharmacological properties. *Cordyceps* cultures may serve as a source of drugs that stimulate the body to fight cancer, hypoglycemia and hypercholesterolemia.

KEY WORDS: *CORDYCEPS* – *CORDYCEPIN* – *ADENOSINE RECEPTORS* – *BIOLOGICAL AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITY*

Charakterystyka entomopatogenicznych grzybów z rodzaju *Cordyceps*

Grzyby z rodzaju *Cordyceps* są jednymi z najbardziej interesujących gatunków. Uważa się, że aktywne składniki grzybów z tego rodzaju włączają się w szlaki komunikacji komórkowej. Producenci preparatów zawierających grzyby *Cordyceps* powszechnie przypisują im działanie stymulujące metabolizm, a także zwiększające liczbę cząsteczek ATP i cAMP.

Znany od tysięcy lat we wschodniej kulturze *Cordyceps sinensis* (ryc. 1), jest przygotowywany przez plemiona nomadów jako gorący napój. Przywraca im siły i wigor w trudnym klimacie Płaskowyżu Tybetańskiego. Zwiększa odporność, pomaga pokonać słabość i zmęczenie. *Cordyceps sinensis* został odkryty dzięki obserwacji jaków wypasanych na Płaskowyżu, który jest ich jedynym siedliskiem. Chińscy naukowcy przeprowadzili kilkaset badań, dokumentując wpływ grzybów na układ immunologiczny, oddechowy, krwionośny i poziom testosteronu (1, 2).

W Azji od tysięcy lat przygotowuje się rzadki i egzotyczny tybetański lek na osłabienie i obniżone libido, choroby serca, nerek i płuc. Jest to sproszkowany owocnik grzyba *Cordyceps sinensis* wraz ze z mumifikowaną larwą, w której pasożytował grzyb. Zarówno gatunek *Cordyceps sinensis*, jak i jego gospodarz – ćma z rodziny *Thitarodes*, występują endemicznie na Wyżynie Tybetańskiej.

Za najważniejsze funkcje uznaje się działanie immunostymulujące i działanie przeciwnowotworowe. Ekstrakt wodny z *Cordyceps* zwiększa wydajność płuc i wykorzystanie tlenu (przyspiesza adaptację komórek do niskiego stężenia tlenu). Według ogólnie dostępnych informacji, ekstrakt jest skuteczny w leczeniu zapalenia oskrzeli, astmy, przewlekłej obstrukcyjnej choroby płuc. Reguluje poziom glukozy we krwi, pobudza syntezę testosteronu. Nukleozyd kordycepin i ergosterol mają działanie przeciwnowotworowe. Kordycepinie (3'-dATP) przypisuje się silne działanie antyoksydacyjne i przeciwcukrzycowe. Kwas kordycepinowy zwiększa odporność i metabolizm. Polisacharydy przyspieszają detoksykację, przemianę materii, działają antyoksydacyjnie i immunostymulująco (1-3).



Ryc. 1. Wygląd grzybów z gatunku *Cordyceps sinensis* (dzięki uprzejmości W. Klimko).

Azjatyckie gatunki odznaczają się szerokim spektrum substancji aktywnych biologicznie. Na aktywność wielu z nich nie uzyskano dotąd naukowych dowodów. Według sceptyków biostymulujące właściwości grzyba *Cordyceps* są często ekstrapolacją wybiórczo kojarzonych faktów. Według nich w pracach badawczych korzysta się z niestandardyzowanych prób; często są to różne gatunki z kilku źródeł i zastosowane różne sposoby ekstrakcji. Preparat uzyskany przez ekstrakcję gorącą wodą zawiera głównie frakcje polisacharydowe (16% β -glukanu). Natomiast preparat otrzymywany przez ekstrakcję grzybni ciekłym nadkrytycznym węglem w stanie nadkrytycznym jest bogaty w nukleozydy i ich pochodne. Niestety brak jest doświadczeń z innymi ekstrahentami, w tym niepolarnymi.

Prace naukowe prowadzone są na trudno dostępnym endemicznym gatunku i nie mogą być potwierdzone (brak surowca, aktywność zależna od klimatu), na hodowlach anamorficznym (nie zawierających elementów zwierzęcych) lub na syntetycznych analogach naturalnych związków. Same badania obejmują znane od dawna w królestwie grzybów substancje: nukleozydy (3'-deoksyadenozyna), ergosterol, D-mannitol, aminokwasy, polisacharydy. Mimo to podkreśla się ich obecność a właściwości lecznicze uważa za unikalne.

Cordyceps sinensis (maczużnik chiński) – opis gatunku

Cordyceps sinensis (maczużnik chiński, yarchagumbu, aweto) należy do królestwa Fungi i gromady *Ascomycota* (workowce). Królestwo grzybów składa się z czterech gromad, których członkowie mają chitynowe ściany komórkowe, co odróżnia grzyby od roślin (ściany komórkowe z celulozy lub hemi-

celulozy). Maczużnik w sensie taksonomicznym jest przedstawicielem grzybów wyższych. Gatunki *Cordyceps* to strzępkowe anamorfy workowców (*Ascomycetes*) z rodziny buławinkowatych (*Clavicipitales*) (4). W lasach europejskich występuje maczużnik bojowy (*Ascomycetes*) i owadomorski (*Entomophthorales*). Królestwo Fungi zostało uznane za jeden z największych zasobów różnorodności biologicznej. Liczba gatunków grzybów na ziemi wynosi około 1,5 mln, podczas gdy opisanych jest 7% (5).

W warunkach naturalnych owocniki grzyba zbierane są powyżej 3000 m n.p.m. w Qinghai w Tybecie i Dolpo w górach Nepalu. Zidentyfikowano 400 spokrewnionych gatunków określanymi terminem *Cordyceps*. Grzyb *C. sinensis* pasożytuje na 30 gatunkach gąsienic z rodziny *Thitarodes* (*Lepidoptera*), które podczas długiej zimy przebywają w stadium larwalnym 12-15 cm pod ziemią. Późną jesienią dochodzi do chemicznej interakcji zarodników grzyba z oskórkiem larwy ćmy. Dotąd nie wiadomo w jaki dokładnie sposób dochodzi do zakażenia larwy. Zdrowe larwy pozostają w pobliżu korzeni rdestu (*Polygonum*), turzycy (*Kobresia*), wyki (*Astragalus*). Zainfekowane larwy spędzają zimę pod ziemią, ale grzyb powoli kieruje je ku powierzchni.

Na początku lata następnego roku, grzybnia zaczyna przerastać wewnątrz młodych owadów i rozwija się owocnik, który wyrasta ponad powierzchnię ziemi. Mieszkańcy Tybetu nazywają grzybnię yartsagunbu – *summer grass*, *winter worm*. Poszukiwania yartsagunbu (ryc. 2) rozpoczynają się w maju i czerwcu na wysokości 3-4 tysięcy metrów i trwają około 5 tygodni. Do zbiorów angażują się całe wioski.

Rosnąca wartość handlowa *Cordyceps sinensis* uzależniła mieszkańców Płaskowyżu Tybetańskiego od



Ryc. 2. Zbiór *Cordyceps sinensis* na Płaskowyżu Tybetańskim (wg flickr.com).

jego pozyskiwania. Zbiór owocników powoduje nadmierne eksploataowanie gatunku. Naukowcy i ekolodzy z World Wildlife Fund i International Union for Conservation of Nature oraz ekolog Yang Darong, badacz *C. sinensis*, zwracają uwagę na niksące zasoby naturalne i degradację siedlisk (12, 50).

W tej chwili ceny rynkowe w Chinach kształtują się na poziomie 20 tysięcy USD za funt grzybni. Zbieracze otrzymują nawet 5 USD za sztukę (mushrooming.com). Surowiec był zbierany i sprzedawany na Wschód już w dynastii Tang (od 618 do 906 r. n.e.). Lek od dawna miał znaczenie dla gospodarki Tybetu. Zbiory sprzedawano na zorganizowanych w trakcie sezonu rynkach.

Na grzyby *Cordyceps* zwrócono uwagę w 1993 roku, podczas olimpiady w Seulu, w wyniku afery dopingowej. Lata 90. ubiegłego wieku sprzyjały tzw. żywności funkcjonalnej. Sława medialna *Cordyceps sinensis* otworzyła mu drzwi do zachodnich laboratoriów badawczych. Amerykańska Akademia Nauk uznała gatunek za potencjalnie zdrowotny. Jest nutraceutykiem wymienionym w europejskim *Novel Food*. A zatem w tym znaczeniu *Cordyceps sinensis* uznano za produkt pomocny w utrzymywaniu zdrowia i zapobiegający chorobom, a nie jako środek leczniczy.

Obecnie grzyby z rodzaju *Cordyceps* uzyskuje się z anamorficznymi grzybni hodowanych w bioreaktorach. Na świecie produkuje się 10 mln ton leczniczych grzybów rocznie. Jest to bardzo dynamicznie rozwijająca się gałąź biotechnologii (7). Szczepy hodowane w bioreaktorach to cenione najwyżej *C. sinensis* i *C. militaris* (najcenniejsze pod względem zawartości kordycepiny). W przypadku hodowli na podłożu sztucznym, nie uwzględnia się koewolucji owadów i grzybów (udziału larw w syntezie związków aktywnych). Część szczepów używanych do tego celu nie ma związków chemicznych uznanych za charakterystyczne dla grzybni *Cordyceps*. Miarą jakości ekstraktu jest zawartość składników aktywnych (adenozyna, kordycepina), oznaczana metodami chromatograficznymi i spektrofotometrycznymi (8).

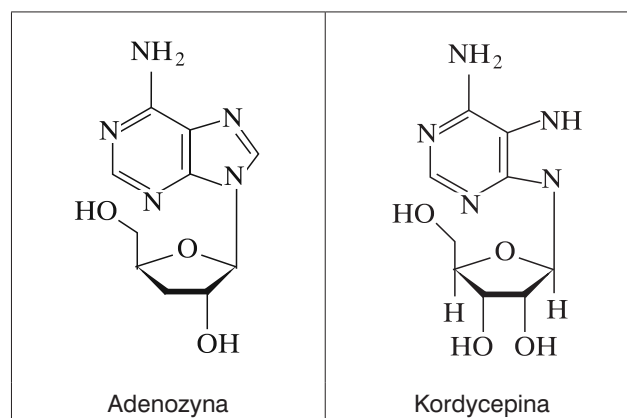
Komercyjne hodowle zawierają aktywne składniki w stężeniu: adenozyna 1500-3700 ($\mu\text{g/g}$), kordycepina

100-4000 ($\mu\text{g/g}$). Wzory chemiczne tych związków ilustruje rycina 3. Ich zawartość jest wskaźnikiem jakości hodowli. Pozostałe czynne składniki to: polisacharydy, D-mannitol, sterole, witaminy A, B, C, E, 16 aminokwasów, dysmutaza nadtlenkowa (SOD) i składniki mineralne. Winkler (10) szacuje, że roczna, globalna produkcja *Cordyceps sinensis* może przekraczać 180 ton.

Obecnie badania prowadzi się na zmodyfikowanych szczepach *C. sinensis* i *C. militaris* zawierających wysokie stężenia kordycepiny i adenozyny (tab. 1). Początkowo kordycepinę otrzymywano z dziko rosnącego gatunku grzyba, ale obecnie jest produkowana syntetycznie lub izolowana z hodowli anamorficznych (8). Wnioski płynące z analiz na temat indywidualnych właściwości składników, nie znajdują potwierdzenia w przypadku naturalnych ekstraktów (11).

Właściwości biologiczne i działanie farmakologiczne

Preparaty uzyskiwane z anamorficznych grzybni, hodowanych w bioreaktorach, są stosowane w terapii nowotworów i w hipoglikemii. Polisacharydy i inne metabolity wtórne uzyskane w bioreaktorach, są przedmiotem szczególnego zainteresowania. W ostatnich latach publikowane są naukowe informacje, które wskazują na pożądane właściwości



Ryc. 3. Wzory chemiczne adenozyny i kordycepiny.

Tabela 1. Porównanie zawartości ($\mu\text{g/g}$) adenozyny i kordycepiny między gatunkiem naturalnym a hodowlanym.

Aktywne związki	Naturalny <i>Cordyceps sinensis</i> ($\mu\text{g/g}$)	Hodowla płynna <i>Cordyceps sinensis</i> ($\mu\text{g/g}$)	Hodowla stała <i>Cordyceps sinensis</i> ($\mu\text{g/g}$)
Adenozyzna	245,3-307,1	1603,1- 3229,0	3709,0
Kordycepina	36,3-57,1	-	4059,0

farmakologiczne. Hodowle *Cordyceps* być może będą służyć jako źródło leków stymulujących organizm do walki z nowotworami, hipoglikemią i hipercholesterolemią (12).

Największą liczbę badań klinicznych i przedklinicznych przeprowadzono w Chinach (13). Ich celem była ocena skuteczności ekstraktu z grzybni wobec astmy, cukrzycy, hipercholesterolemii. Większość z tych badań nie spełnia jednak kryteriów Unii Europejskiej: standaryzowane próbki, randomizowane, podwójnie ślepa próba, opracowanie statystyczne (14).

Właściwości immunomodulujące

Udowodniono, że wodny ekstrakt z *Cordyceps sinensis* aktywuje makrofagi (15). Na modelu zwierzęcym zbadano działanie terapeutyczne związane z aktywacją wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, czyli aktywacji makrofagów i czynników prozapalnych. Uzyskano wynik pozytywny. Okazało się, że ekstrakt z *Cordyceps sinensis* zaktywował makrofagi do produkcji cytokin.

W tym czasie w innej publikacji opisano aktywację makrofagów i uwolnienie mediatorów, w tym TNF- α , IL-1, IL-12, reaktywnych form tlenu i azotu oraz proteaz (16). Ponadto zebrano dowody hipotezy, że składniki ekstraktu aktywują odpowiedź immunologiczną przez receptory Toll-like (TLR) i kinazy MAPK (17).

Wodne ekstrakty z *C. sinensis* i *C. militaris* wykazywały działanie przeciwbakteryjne wobec gronkowca złocistego, prawdopodobnie w wyniku wzrostu aktywności makrofagów fagocytujących i ekspresji cytokin (38).

Działanie przeciwnowotworowe

Wong i wsp. (18) podają, że w niskich dawkach kordycepina hamuje niekontrolowany wzrost i podział komórek, podczas gdy w dużych dawkach zapobiega gromadzeniu się komórek nowotworowych w jednym miejscu. W tym badaniu wykorzystano dziko rosnące szczepy grzybów. Naukowcy uważają, że za efekt odpowiada jeden mechanizm i jedno białko. Niskie dawki hamują powstanie mRNA, a przy wyższych dawkach kordycepina bezpośrednio hamuje syntezę białek. Autorzy opracowali ponadto metodę pozwalającą na ocenę skuteczności preparatów z kordycepiną i jej połączeniami z innymi lekami.

Czasopismo „Cancer Immunology Immunotherapy” opublikowało w 2010 roku wyniki badań (17), dowodząc zahamowanie przez wyciągi z grzyba *Cordyceps* przerzutów do płuc u chorych na raka piersi. Rozwój przerzutów jest przyczyną śmierci. Naukowcy

stwierdzili, że terapia wyciągiem z grzyba nie zmniejszyła wzrostu guza pierwotnego, ale zahamowała przerzuty, wobec tego spadła umieralność pacjentów. Oznacza to, że terapia zatrzymała rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych. Przypuszcza się, że wzrost przeżywalności po podaniu ekstraktu z *Cordyceps* nie jest wywołany cytotoksycznością wobec komórek nowotworowych, ale jest pewnego rodzaju odpowiedzią immunologiczną, która skutecznie hamuje inwazję tkanki nowotworowej.

Naukowcy proponują dwa mechanizmy antyproliferacyjne kordycepiny: cytostatyczny (blokada cyklu komórkowego poprzez wiązanie się z receptorami adenozyliny) i cytotoksyczny (apoptoza).

Udowodniono, że niskie stężenie kordycepiny powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego, a wysokie wywołało apoptozę komórek czerniaka i białaczki (19).

Biologiczny mechanizm działania kordycepiny nie jest dokładnie poznany, ale ostatnie badania sugerują, że efekt antyproliferacyjny wywołany jest poprzez zablokowanie receptorów adenozynowych i wywołanie apoptozy. Jednak doświadczenia na komórkach raka nabłonkowego (pozbawionych receptorów adenozynowych) wskazują, że i w nich zachodzi apoptoza. Ścieżki, którymi kordycepina wyzwała procesy apoptozy w komórkach wymagają większej liczby badań, tym bardziej, że doświadczenia na myszach nie potwierdziły efektu cytotoksycznego (20). Ponadto stwierdzono, że ekstrakt z *C. militaris* hamuje wzrost komórek śródbłonka żyły pępowinowej człowieka (HUVEC) i komórek włókniaka HT 1080 oraz powoduje zahamowanie angiogenezy (39).

Podsumowując, kordycepina to bezpieczny i naturalny związek hamujący proliferację komórek *in vitro*, ale dotychczas nie ma przekonujących dowodów na to, że wyciąg z grzybni *Cordyceps* i kordycepinę można zaliczyć do skutecznych leków przeciwnowotworowych.

Działanie przeciwwirusowe

Kordycepina (3'dATP) jest pochodną adenozyliny. Ponieważ jest do niej podobna, enzymy nie rozróżniają ich. Dlatego kordycepina uczestniczy w reakcjach syntezy kwasów nukleinowych. To powoduje przedwczesne zakończenie procesu syntezy. Większość bakterii i wirusów (w tym wirus HIV) nie mają mechanizmów naprawy kwasów nukleinowych. Wbudowanie w syntetyzowany łańcuch RNA lub DNA cząsteczki kordycepiny, która nie ma tlenu w pozycji 3' w cząstce rybozy, dezintegruje strukturę. Taki nukleotyd nie prowadzi do powstania normalnych łańcuchów DNA i RNA, które w tej postaci nie spełniają swoich

funkcji. Prawdopodobnie nie jest to jedyny mechanizm przeciwwirusowy i przeciwbakteryjny, gdyż grzyby z rodzaju *Cordyceps* syntetyzują szereg innych związków biobójczych (25).

Działanie psychoaktywne

Duża liczba nowoczesnych leków wywodzi się ze świata roślin, grzybów i drobnoustrojów. Aż dziesięć z dwudziestu najbardziej znaczących leków pochodzi ze świata grzybów. Są to antybiotyki, statyny obniżające poziom cholesterolu, leki immunosupresyjne (cyklosporyna) i psychoaktywne (LSD) (21).

Wiele osób uważa, że po pierwszej dawce *C. sinensis* występuje uczucie jasności umysłu, czasem graniczące ze stanem wywołanym wczesną fazą działania LSD. Kolory wydają się jaśniejsze, umysł wydaje się być czysty i rozróżnia bodźce z krystaliczną przejrzystością. Wzrost libido jest najczęściej odczuwany jako niepożądany. Niektóre osoby stwierdzają suchość w ustach, nudności i biegunkę (1).

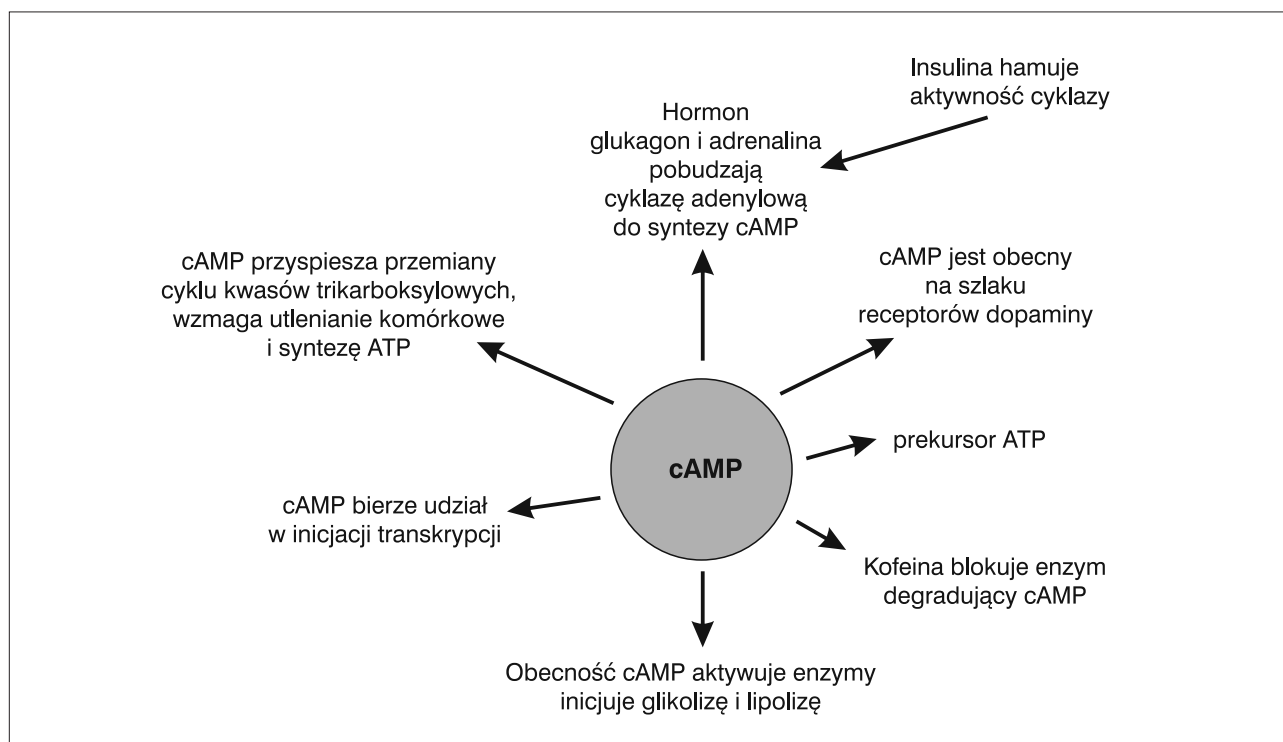
Nukleozyd adenozyntrifosforan (ATP) działa jako neuroprzekaznik. Receptory dla ATP (receptory purynergiczne) znajdują się błonach komórkowych wielu organów – w tym w neuronach. Związki, takie jak kofeina lub kordycepina, blokują ich aktywność. Być może w ten sposób działają nukleozydy występujące

w ekstraktach z grzybów *Cordyceps*. Zjawisko oddziaływania nukleozydów z *Cordyceps* na receptory purynergiczne, adrenergiczne i dopaminergiczne, zaobserwowano już kilka lat temu (22).

W ocenie przeciwdepresyjnego działania wyciągów *C. sinensis* (2,5-10 mg/kg) u myszy wykorzystano fakt, że zmęczenie jest ściśle związane z depresją. Wyniki sugerują, że *C. sinensis* wywołuje efekt podobny do działania leków przeciwdepresyjnych i prawdopodobnie działa poprzez te same receptory błonowe.

Działanie biologiczne cząsteczek ATP i cAMP

Cząsteczki ATP i cAMP biorą udział w każdym procesie metabolicznym u ssaków. Od dawna wiadomo, że komórki i tkanki reagują na pojawiające się na zewnętrznej błonie komórkowej nukleotydy i nukleozydy (ryc. 5). Niektóre komórki reagują dopiero gdy nukleotydy ulegnie hydrolizie do adenozyny pod wpływem enzymów. Już 30 lat temu przypisywano ATP rolę w przekazywaniu sygnałów w neuronach. Współcześnie wiadomo, że istnieje wiele podtypów błonowych receptorów purynergicznych – rozpoznających nukleotydy purynowe, natomiast komórki układu immunologicznego, krążenia i nerwowego uwalniają ATP i adenozynę. Cząsteczki ATP i adenozyne są



Ryc. 4. Udział cAMP w procesach metabolicznych.

również uwalniane z martwych komórek jako sygnał zaistniałej apoptozy.

Nukleozyd adenozyne jest transportowana do wnętrza cytoplazmy przez receptory błonowe i inicjuje zmiany metaboliczne i behawioralne. Modyfikuje procesy funkcjonowania układu krążenia, oddechowego, wydzielniczego, odpornościowego i nerwowego. Wewnątrz komórek jej stężenie wynosi 0,03-0,3 μmol (23).

W układzie nerwowym adenozyne i jej pochodne prowadzą do zmniejszenia pobudliwości neuronów – hamują wydzielanie neuroprzekaźników. Zjawisko aktywacji neuronów przez adenozyne obserwuje się po uprzednim zahamowaniu aktywności neuronów. Adenozyne pełni rolę ochronną w przypadku niedotlenienia, niedokrwienia i stresu oksydacyjnego komórek – aktywuje kaskady odpowiednich enzymów i białek, np. dysmutazy nadtlenukowej.

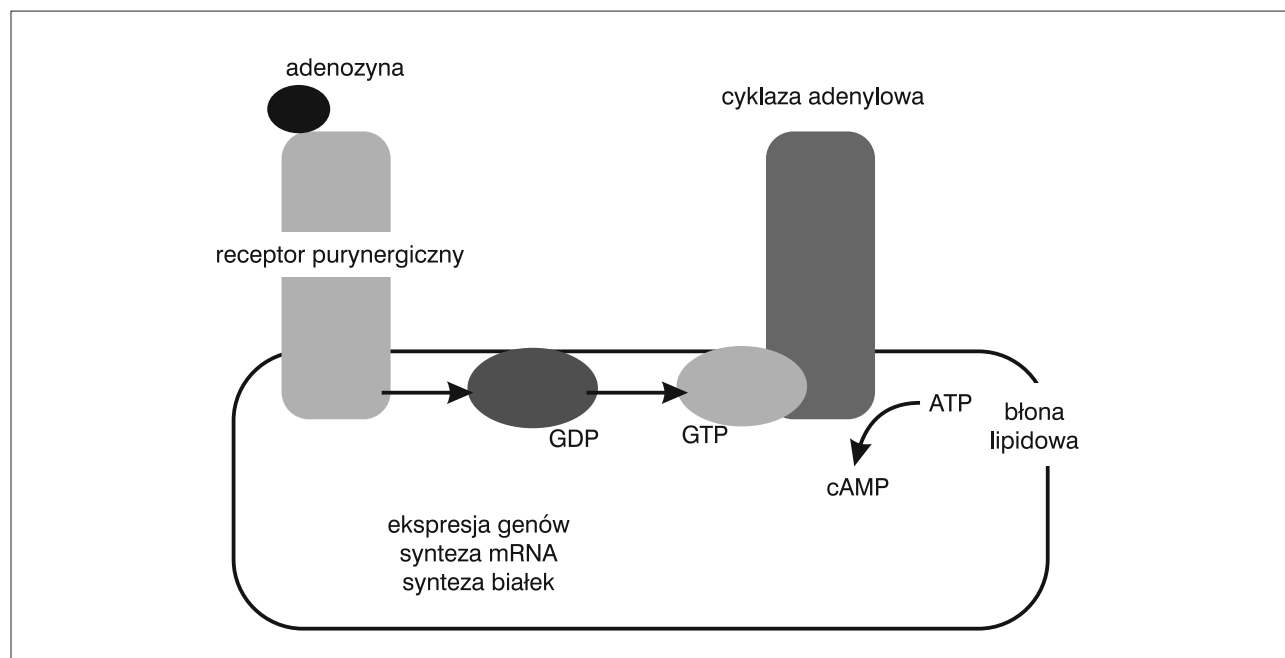
Zewnętrzne działanie ATP polega na otwarciu kanałów jonowych i zmianie gradientu stężeń po obu stronach błony komórkowej, bądź uruchamianiu kaskad białkowych w cytoplazmie. Układ nerwowy jest bardzo dobrze wyposażony w kilka podtypów receptorów purynerycznych, które biorą udział w procesach neurotransmisji i neuroregulacji.

cAMP jest jednym z najważniejszych przekaźników drugiego rzędu w transdukcji sygnałów pochodzących od hormonów (ryc. 4). Związek ten jest obecny na szlaku receptorów dopaminy, powiązanej z zachowa-

niami społecznymi. Obecność cAMP aktywuje kinazy białkowe w komórce i bierze udział w procesach glikolizy i lipolizy. Współzależność oddziaływania biologicznego ATP i cAMP przedstawiono na ryc. 5. Receptory adenozynowe są związane z białkami G, kanałami jonowymi lub są nieselektywnymi porami w błonie komórkowej aktywowanymi przez ATP (23).

Producenci zapewniają jednak, że w przeciwieństwie do stymulatorów, takich jak kofeina, efedryna i amfetamina, które powodują uczucie przyływu energii, efekt ekstraktu z *Cordyceps* na poziom energii jest realny. Dawka dostępnych na rynku suplementów to 2-4 gramy na dobę. W badaniu przedklinicznym, przeprowadzonym na królikach w 1987 roku, nie stwierdzono działania toksycznego (24). Dawka wynosiła 80 g/kg/dzień przez 3 miesiące.

W ostatnim czasie, gdy w Europie i USA popularność rodzaju *Cordyceps* rośnie, badania przeprowadzone 20 lat temu podlegają weryfikacji. Szuka się przekonujących dowodów na to, że grzyb zwiększa wydolność fizyczną (potencjał energetyczny tlenowy i beztlenowy). W testach bada się parametry tlenowe: wentylację i pojemność dyfuzyjną płuc, pojemność tlenową krwi, liczbę mitochondriów w mięśniach, liczbę włókien wolnokurczliwych oraz parametry beztlenowe: aktywność enzymów oddechowych i glikolitycznych, pojemność buforową krwi, poziom ATP i glikogenu w mięśniach (bada się próg kumulacji mleczanu w mięśniach).



Ryc. 5. Współzależność działania biologicznego ATP i cAMP.

W dwóch badaniach klinicznych oceniano efekt suplementacji diety adenozyntrifosforanem (ATP). Testy obejmowały ćwiczenia wytrzymałościowe i wysokość skoków (26). Doświadczenie wykazało, że doustne przyjmowanie ATP nie poprawiło siły i wytrzymałości mięśni, ani wysokości skoków. Autorzy zbadali wpływ wysokich (225 mg) i niskich (150 mg) dawek ATP na 75 minut przed badaniem. Żadna z nich nie zwiększyła wydolności beztlenowej mięśni.

W innym doświadczeniu sportowcom podawano rybozę (budulec ATP). Wyniki wskazują, że doustna suplementacja rybozą (10 g/dzień w ciągu 5 dni) nie wpłynęła na wydolność beztlenową i nie zmieniła markerów metabolizmu: aktywności enzymów oddechowych i glikolitycznych, poziomu ATP i poziomu glikogenu w mięśniach (32).

Dotychczas nie ma przekonujących dowodów na poprawę siły mięśni, wytrzymałość i wysokość skoków w związku z przyjmowaniem ATP lub substratów do budowy ATP.

Jedną z najprostszych metod, pozwalających na ustalenie, czy suplement zwiększa poziom ATP jest ocena wytrzymałości myszy w teście pływania. Chińscy badacze podzielili zwierzęta na dwie grupy, jednej z nich podawano ekstrakt z *Cordyceps* (100-200 mg/kg/dzień). Po 6 tygodniach suplementacji dawką 200 mg sprawność fizyczna myszy wzrosła o 200% (27).

W 2004 roku opublikowane zostały wyniki podobnego doświadczenia z *Cordyceps*. W tym przypadku badano poziom glikogenu. Nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości glikogenu w wątrobie i mięśniach łydki między grupą kontrolną, a suplementowaną (28).

W badaniu nad wydolnością tlenową płuc osób starszych z objawami przewlekłego zmęczenia, wyniki wskazują na wzrost wentylacji płuc, pojemności tlenowej krwi i sprawności fizycznej po 6 tygodniach suplementacji *C. sinensis*. Część osób potwierdziła poprawę samopoczucia, lepszą tolerancję zimna, spadek zmęczenia (29).

Z kolei w badaniu przeprowadzonym w 2010 roku na grupie 20 osób (50-75 lat), po 12 tygodniach suplementacji preparatem CS-4 (zmodyfikowany *C. sinensis*) nie odnotowano znaczących zmian w potencjale energetycznym ochotników. Dawka 333 mg CS-4 podawana przez 12 tygodni podniosła próg, powyżej którego mleczan kumuluje się w mięśniu, o zaledwie 10,5%, a próg wentylacji płuc o 8,5% (30).

Kilka lat wcześniej prowadzono podobne badanie z udziałem szczepów *Cordyceps sinensis* hodowanych do celów leczniczych w laboratoriach Azji. Celem

badania było określenie wydolności tlenowej i beztlenowej u zawodowych sportowców. Program trwał 5 tygodni, a dawka wynosiła 3 g/dobę. Wydolność tlenowa była podobna jak w przypadku placebo. Czasy uzyskiwane przez sportowców w różnych grupach nie różniły się, ani nie zmieniły się w zależności od dawki i okresu suplementacji. Stwierdzono, że po 5 tygodniach podawania ekstrakt z *Cordyceps sinensis* nie miał wpływu na wydolność tlenową i wytrzymałość sportowców (31).

W poszukiwaniu alternatywy dla dopingu, na coraz większą skalę prowadzi się badania nad surowcami używanymi w tradycyjnej medycynie chińskiej. Celem projektu było przygotowanie kombinacji *Cordyceps sinensis* (C.s.) i *Rhodiola rosea* (R.r.) oraz zbadanie wpływu na dynamikę krążenia krwi i poziom nasycenia tlenem tkanki mięśniowej. Pod uwagę brano inne parametry tlenowe (wentylację) i beztlenowe (próg zakwaszenia). W podsumowaniu stwierdzono nieznacznie zwiększone parametry beztlenowe (33).

W Japonii przeprowadzono badanie (34), w którym myszom z indukowaną niedokrwistością podawano C.s. (200 mg/kg/dzień). Oceniano stężenie markerów energetycznych (jonów fosforu i wodoru) za pomocą spektrometrii NMR oraz przepływ krwi przez wątrobę. Według autorów ekstrakt *C. sinensis* rozszerzał naczynia krwionośne i zwiększył przepływ krwi w wątrobie, generując wyższy poziom ATP. To mogło przyczynić się do przyspieszenia odbudowy i poprawy funkcjonowania wątroby u pacjentów z niedokrwistością.

Działanie biologiczne metabolitów wtórnych Cordyceps

W tabeli 2 przedstawiono substancje biologicznie aktywne występujące w grzybach z rodzaju *Cordyceps*.

Wyróżnia się przeciwnowotworowe i przeciwwirusowe działanie kordycepiny i pochodnych nukleotydów oraz przeciwgrzybicze działanie opiokordyny. Polisacharydy wykazują działanie ochronne przed uszkodzeniem oksydacyjnym w komórce. Ekstrakty z *C. sinensis* i *C. militaris* mają zdolność wymiatania wolnych rodników (11). Osiem gatunków z rodzaju *Cordyceps* (*C. militaris*, *C. cicadae*, *C. ophioglossoides*, *C. heteropoda*, *C. pseudomilitaris*, *C. nipponica*, *C. sinclairii*, *C. sinensis*) rokuje nadzieję na wykorzystanie w praktyce medycznej.

Działanie hipoglikemiczne

Stwierdzono, że *Cordyceps sinensis* reguluje poziom glukozy we krwi (1, 2, 11). Doświadczenia przeprowadzone na zwierzętach potwierdzają zwiększenie wrażliwości na insulinę i aktywację enzymów glukokinazy i eksokinazy w wątrobie. W randomizo-

Tabela 2. Substancje biologicznie aktywne występujące w grzybach z rodzaju *Cordyceps* (wg 35, 36 i 37).

Substancje biologicznie aktywne	Właściwości
Kordycepina (3'-dezoksyadenozyna) Adenina Adenozyna Tymina Guanina Uracyl Guanozyna Urydeina Urydyna	podstawowe elementy DNA i RNA; obecne na szlakach przemian metabolicznych i transdukcji sygnałów; substraty do syntezy ATP i cAMP; nukleozydy i ich pochodne funkcjonują jako specyficzne cząsteczki sygnałowe; przenoszą energię w postaci ATP i GTP; dinukleotyd nikotynamido-adeninowy (NAD) oraz fosforan (NADP+) przekazują jony wodoru w reakcjach metabolizmu i elektronów w reakcjach redoksowych; acetylokoenzym A (CoA) przenosi dwuwęglowe reszty acylowe
Ergosterol	hamuje aktywność limfocytów T i mediatory stanu zapalnego; jest powszechny w królestwie grzybów i nie wykazuje żadnych szczególnych właściwości, które nie byłyby już znane
D-mannitol	zaliczany do diuretyków osmotycznie czynnych
Opiokordyna	antybiotyk
Bioksantraceny Kordyheptapeptydy Cykloheptapeptydy	związki cytotoksyczne, przeciwmalaryczne
Hipoksantyna	adenina jest dezaminowana do hipoksantyny; utlenia się do ksantyny i dalej do kwasu moczowego; kwas ma właściwości antyoksydacyjne
Polisacharydy	ekstrahowane wodą i etanolem wybrane frakcje polisacharydów wykazują silne działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne, stymulujące fagocytozę, hipoglikemiczne i hipercholesterolemiczne
Egzopolisacharydy	wykazano działanie immunomodulujące, przeciwzapalne, hamujące odpowiedź humoralną
Myriocyna, termozymocydyna	fungicydy
Cyklosporyny	działanie immunosupresyjne
Kwas dipikolinowy	inhibitor oksydaz, obniża wrażliwość endospor na promieniowanie UV
Lectyny	hemoaglutynacja erytrocytów mysich

wanym badaniu u 95% pacjentów leczonych *C. sinensis* w dawce 3 g/dzień, stwierdzono regulację stężenia cukru we krwi w porównaniu z osobami leczonymi innymi metodami (40, 41). Ostatnie dane wskazują, że również inne nukleozydy i ich pochodne obecne w ekstraktach z *C. sinensis* odgrywają aktywną rolę w leczeniu cukrzycy (42).

Działanie na drogi oddechowe

W doświadczeniu obejmującym leczenie chorób dróg oddechowych wykazano, że ekstrakt z *Cordyceps militaris* stymuluje wydzielanie jonów chloru w nabłonku oskrzeli (hamuje wydzielanie śluzu). Jest to bardzo ważna informacja ze względu na intensywne poszukiwania leków przeciw astmie (43).

Dostępne są już wyniki badań klinicznych przeprowadzonych z udziałem dzieci chorych na astmę (44). Projekt miał ocenić wpływ leczenia uzupełniającego na poprawę markerów biochemicznych u

dzieci z astmą, które stosowały jednocześnie kortykosteroidy wziewne. Dzieci otrzymywały ekstrakty wodne z 5 ziół (*Astragalus mongholicus*, *Cordyceps sinensis*, *Radix stemonae*, *Bulbus fritillariae* i *Radix scutellariae*) w dawce 0,619 g/dzień drogą wziewną przez 6 miesięcy. Nie stwierdzono istotnej różnicy w wynikach analiz biochemicznych pomiędzy grupami. To badanie nie dostarczyło dowodów na poparcie terapii ziołowej wspomaganą *C. sinensis* u dzieci z astmą (44).

W leczeniu chorób dróg oddechowych wykazano, że *Cordyceps militaris* jest skuteczny w łagodzeniu objawów przewlekłego zapalenia oskrzeli (45).

Działanie regulujące proces syntezy hormonów sterydowych

Opublikowane prace (46, 47) opisują wzrost stężenia cAMP i aktywację białka StAR w komórkach Leydiga po zastosowaniu syntetycznej kordycepiny.

Przypuszcza się, że działa ona na receptory błonowe komórek Leydiga, a następnie stymuluje je do produkcji testosteronu. W rezultacie kordycepina reguluje proces syntezy wszystkich hormonów sterydowych z cholesterolu (cholesterol jest prekursorem hormonów sterydowych). W regulacji syntezy steroidów uczestniczy steroidogenowe białko regulatorowe StAR, zależne od cAMP (46).

Kiedy już udowodniono, że ekstrakt z *Cordyceps* stymuluje komórki Leydiga do utworzenia kompleksu cAMP-PKA-StAR i ekspresji genów kodujących testosteron, ukazała się publikacja, która proponuje inny szlak molekularnych wydarzeń prowadzących do steroidogenezy i apoptozy mysich komórek nowotworowych Leydiga M-10.

Proces uwalniania hormonów jest jednym z tych czynników, które decydują o zmianach zachodzących w ciele człowieka. Przykładem może być testosteron (17 β -hydroksy-4-androsten-3-on), podstawowy hor-

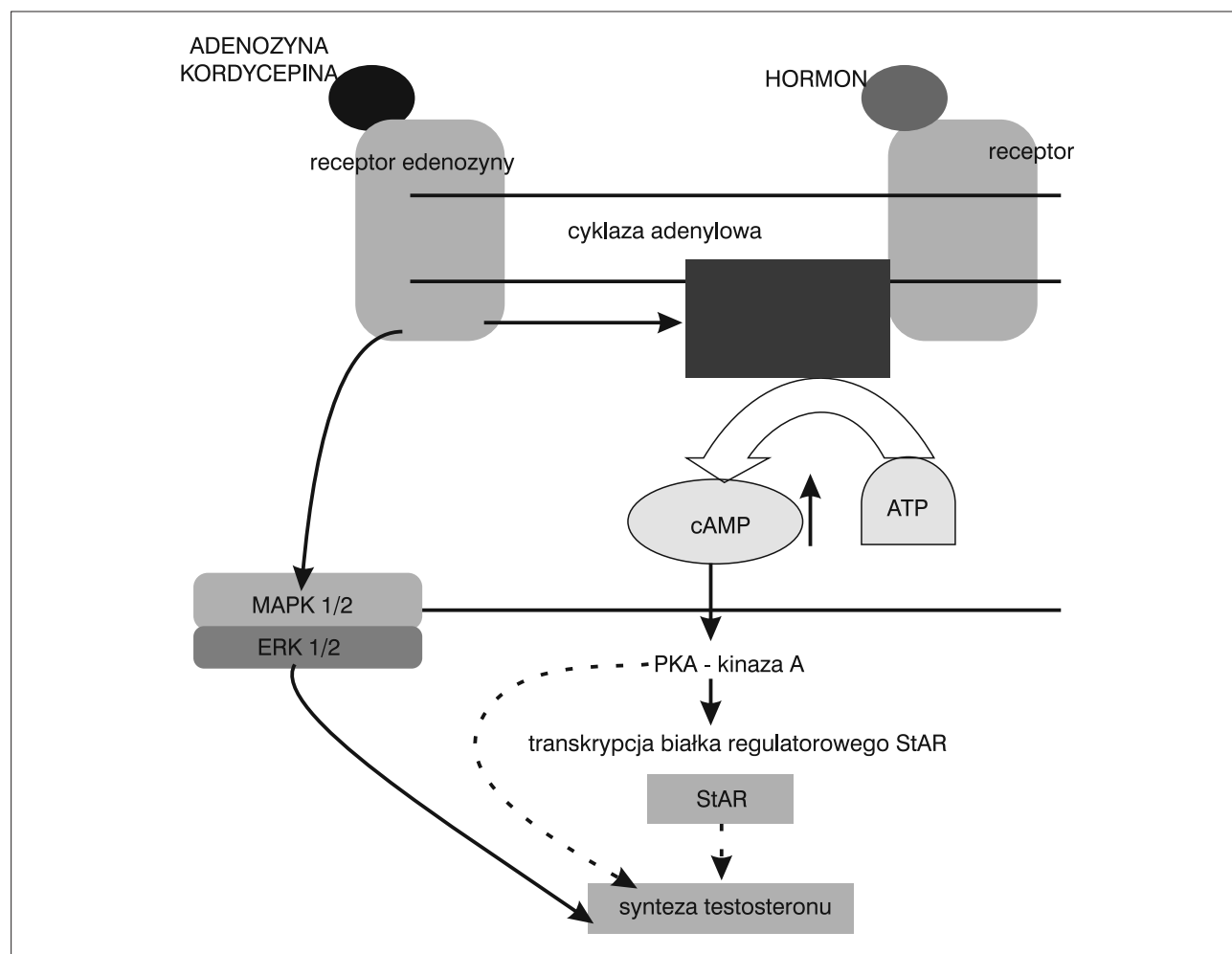
mon płciowy należący do androgenów. Produkowany jest głównie przez komórki śródmiąższowe Leydiga w jądrach i jest prawdopodobnie najbardziej znanym hormonem anabolicznym, który wspiera syntezę białek.

Kordycepina może korzystać z dróg niezależnych od kinazy PKA i białek StAR. Możliwe, że aktywuje ścieżkę MAPK-ERK 1 / 2 i PKC bez aktywacji promotora StAR (ryc. 6) (47).

Najnowsze badania wskazują, że kordycepina przyłącza się do receptorów adenozyliny i pobudza produkcję hormonów sterydowych w liniach nowotworowych Leydiga M-10.

Działanie zwiększające potencję

Zaburzenia erekcji mają wiele przyczyn. Są to problemy natury psychologicznej lub organicznej (schorzenia układu krążenia, unaczynienie, obniżenie poziomu testosteronu). W tym ostatnim przypadku stosuje się terapię hormonalną i stymuluje przysadkę



Ryc. 6. Proponowany wpływ kordycepiny na syntezę testosteronu (46, 47).

do wytworzenia testosteronu, a jeśli to nie wystarcza, podaje się sam testosteron.

Leki takie jak sildenafil (Viagra), tadalafil i wardenafil działają poprzez efekt tlenku azotu (NO) na naczynia krwionośne. NO rozszerza tętnice i zwiększa napływ krwi. Tlenek azotu nie działa jednak na psychikę, nie zwiększa pożądania.

Najnowsze badania chińskich naukowców (48) wskazują, że związki występujące w *C. sinensis* mają właściwości hipotensyjne i wazorelaksacyjne. Wazorelaksacyjny efekt związany jest z wytwarzaniem NO, tak samo, jak w przypadku Viagry. Są to wstępne wyniki i autorzy podkreślają, że dalsze prace nad mechanizmem będą kontynuowane. Praca przeglądowa z 2003 roku (49) wskazuje na *C. sinensis* jako na jeden z potencjalnych preparatów przydatnych do leczenia zaburzeń erekcji.

Piśmiennictwo

1. Holliday J, Cleaver M. On the trail of the yak ancient cordyceps in the modern world. 2004 (www.heartfeltmedicine.com)

2. Das SK, Masuda M, Sakurai A i wsp. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. *Fitoter* 2010; 81(8):961-8.

3. Meletis CD, Barker JE. Medicinal mushrooms: a selective overview. *Altern Complement Ther* 2005; 11:141-5.

4. Sung G-H, Hywel-Jones NL, Sung J-M i wsp. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Stud Mycol* 2007; 57:5-59.

5. Hawksworth DL. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol Res* 2001; 105:1422-32.

6. Maczey N, Kuenzang D, Cannon P i wsp. *Thitarodes namnai* sp. nov. and *T. caligophilus* sp. nov. (*Lepidoptera: Hepialidae*), hosts of the economically important entomopathogenic fungus *Ophiocordyceps sinensis* in Bhutan. *Zootaxa* 2010; 2412:42-52.

7. Smith JE, Rowan NJ, Sullivan R. Medicinal mushrooms: a rapidly developing area of biotechnology for cancer therapy and other bioactivities. *Biotechnol Lett* 2002; 24:1839-45.

8. Masuda M, Urabe E, Sakurai A i wsp. Production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Enzyme Microb Technol* 2006; 39: 641-6.

9. Fan H, Li SP, Xiang JJ i wsp. Qualitative and quantitative determination of nucleosides, bases and their analogues in natural and cultured *Cordyceps* by pressurized liquid extraction and high performance liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS). *Anal Chim Acta* 2006; 567:218-28.

10. Winkler D. **W druku**. *Asian Med* 2009; 5:291-316

11. Russell R, Paterson M. *Cordyceps* – A traditional Chinese medicine and another fungal therapeutic bioreactor? *Phytochem* 2008; 69:1469-95.

12. Winkler D. Caterpillar fungus (*Ophiocordyceps sinensis*) production and sustainability on the Tibetan Plateau and in the Himalayas. *Chin J Grassland* 2010; Sup 32:96-108.

13. Studies with *Cordyceps sinensis*. <http://www.nwbotanicals.org>

14. Hodowla grzyba z Himalajów. www.naukadlzdrowia.pl, 2010.

15. Jordan JL, Sullivan AM, Lee TD. Immune activation by a sterile aqueous extract of *Cordyceps sinensis*: mechanism of action. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2008; 30(1):53-70.

16. Jubinsky PT, Dickens DS, Short MK. New roles for mononuclear phagocytes in cancer biology. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008; 30:584-91.

17. Jordan JL, Nowak A, Lee TDG. Activation of innate immunity to reduce lung metastases in breast cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2010; 59(5):789-97.

18. Wong YY, Moon A, Duffin RJ. Cordycepin inhibits protein synthesis and cell adhesion through effects on signal transduction. *Biol Chem* 2010; 285(4):2610-21.

19. Ohana G, Bar-Yehuda S, Barer F i wsp. Differential effect of adenosine on tumor and normal cell growth: Focus on the A3 adenosine receptor. *J Cell Physiol* 2001; 186(1):19-23.

20. Ju-Hyon L i wsp. Anti-cancer effects of cordycepin on oral squamous cell carcinoma proliferation and apoptosis *in vitro*. *J Canc Ther* 2011; 2:224-34.

21. Jian-Hui X, Jian-Jiang Z. Secondary metabolites from *Cordyceps* species and their antitumor activity studies. 2007; 1(2).

22. Nishizawa K i wsp. Antidepressant-like effect of *Cordyceps sinensis* in the mouse tail suspension test. *Biol Pharm Bull* 2007; 30(9):1758-62.

23. Receptory, struktura, funkcja (red. Nowak J). PWN 1997; 211-223.

24. Huang Y, Lu J, Zhu B i wsp. Toxicity study of fermentation *Cordyceps mycelia* B414. *Zhongchengyao Yanjiu* 1987; 10:24-25.

25. Das SK, Masuda M, Sakurai A. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: Current state and prospects. *Fitoterapia* 2010; 81:961-68.

26. Jordan AN, Jurca R, Abraham EH i wsp. Effects of oral ATP supplementation on anaerobic power and muscular strength. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36(6):983-90.

27. Mizuno T. Medicinal effects and utilization of *Cordyceps* (Fr.) (*Ascomycetes*) and *Isaria* Fr. (Mitosporic fungi) Chinese caterpillar fungi. *Int J Med Mushr* 1999; 1:251-62.

28. Jung K, Kim IH, Han D. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice. *J Ethnopharmacol* 2004; 93(1):75-81.

29. Wang WQ. Chronic obstructive pulmonary diseases improvement of 40% after *Cordyceps* supplement. *J. Admin Trad Chinese Med* 1995; 5:24

30. Effect of Cs-4 (*Cordyceps sinensis*) on exercise performance in healthy older subjects: a double-blind, placebo-controlled trial. *J Altern Compl Med* 2010; 1, 6(5):585-90.

31. Parcell AC, Smith JM, Schulthies SS i wsp. *Cordyceps sinensis* (CordyMax Cs-4) supplementation does not improve endurance exercise performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2004; 14(2):236-42.

32. Kreider RB, Melton C, Greenwood M i wsp. Effects of oral D-ribose supplementation on anaerobic capacity and selected metabolic markers in healthy males. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2003; 13(1):76-86.

33. Colson SN. *Cordyceps sinensis* and *Rhodiola rosea* based supplementation in male cyclists and its effect on muscle tissue oxygen saturation. *J Strength Cond Res* 2005; 19(2):358-63.

34. Manabe N. Effects of the mycelial extract of cultured *Cordyceps sinensis* on *in vivo* hepatic energy metabolism and blood flow in dietary hypoferric anaemic mice. *Brit J Nutr* 2000; 83:197-204.

35. Xie JW, Huang LF, Hu W i wsp. Analysis of the main nucleosides in *Cordyceps sinensis* by LC/ESI-MS. *Molecules* 2010; 13,15(1):305-14.

36. Yu R, Yang W, Song L i wsp. Structural characterization and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of cultured *Cordyceps militaris*. *Carbohydr Polym* 2007; 70:430-36.

37. Zhang W, Yang J, Chen J i wsp. Immunomodulatory and antitumor effects of an exopolysaccharide fraction from cultivated *Cordyceps sinensis* (Chinese caterpillar fungus) on tumour-bearing mice. *Biotechnol Appl Biochem* 2005; 42, 9-15.

38. Kuo C-F, Chen C-C, Lin C-F i wsp. Abrogation of streptococcal pyrogenic exotoxin B-mediated suppression of phagocytosis in U937 cells by *Cordyceps sinensis* mycelium via production of cytokines. *Food Chem Toxicol* 2007; 45: 278-85.

39. Yoo HS, Shin JW, Cho JH i wsp. Effects of *Cordyceps militaris* extract on angiogenesis and tumor growth. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25: 657-65.

40. Kiho T i wsp. Hypoglycemic activity of a polysaccharide (CS-F30) from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis* and its effect on glucose metabolism in mouse liver. *Biol Pharm Bull* 1996; 19(2):294-96.

41. Li SP, Zhang GH, Zeng Q i wsp. Hypoglycemic activity of polysaccharide, with antioxidation, isolated from cultured *Cordyceps mycelia*. *Phytomed* 2006; 13(6):422.

42. Shin S, Lee S, Kwon J i wsp. Cordycepin suppresses expression of diabetes regulating genes by inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammation in macrophages. *Immune Netw* 2009; 9(3):98-105.

43. Fung JC, Yue GG, Fung KP i wsp. *Cordyceps militaris* extract

stimulates Cl(-) secretion across human bronchial epithelia by both Ca(2+)- and cAMP-dependent pathways. *J Ethnopharmacol* 2011; 138(1):201-11. **44.** Wong EL, Sung RY, Leung TF i wsp. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of herbal therapy for children with asthma. *J Altern Complement Med* 2009; 15(10):1091-7. **45.** Zhu TZ, Zhang YP, Zhu TY. Efficacy of *Cordyceps militaris* capsules in treatment of chronic bronchitis. *Chinese J Inf Traditional Chin Med* 2006; 13:64-65. **46.** Chen Y-C, Huang Y-L, Huang B-M. *Cordyceps sinensis* mycelium activates PKA and PKC signal pathways to stimulate in MA-10 mouse

Leydig tumor cells. *Inter J Biochem Cell Biol* 2005; 37(1):214-23. **47.** Pan B-S, Lin C-Y, Huang B-M. The effect of cordycepin on steroidogenesis and apoptosis in MA-10 mouse Leydig tumor cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011. **48.** Chiou WF, Chang PC, Chou CJ i wsp. Protein constituent contributes to hypotensive and vasorelaxant activities of *Cordyceps sinensis*. *Life Sci* 2000; 25, 66(14):1369-76. **49.** Drewes E, George J, Khan F. Recent findings on natural products with erectile-dysfunction activity. *Phytochem* 2003; 62,(7):1019-25.

Received: 07.11.2011
Accepted: 15.11.2011

Adres/address:
*mgr inż. biotech. Ewa Karpińska
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich
Zakład Farmakologii i Biologii Doświadczalnej
ul. Libelta 27, 61-707 Poznań
tel.: +48 (61) 665-95-50
e-mail: ewa.karpinska@iwnirz.pl