ISSN: 2421-0366

TMA

TECNICHE MEDICHE ASSOCIATE

3

Novembre 2015

Trimestrale di studio e di ricerca sulle medicine naturali

Numero 3 in attesa di registrazione

OLI E FARMACI CONVENZIONALI ATTIVITÀ A CONFRONTO

Vivian Tullio, Narcisa Mandras, Janira Roana, Daniela Scalas, Valeria Allizond, Elisa Marra, Giuliana Banche, Annamaria Cuffini

Negli ultimi vent'anni l'interesse clinico nei confronti della medicina "naturale" è notevolmente aumentato e, soprattutto, si è assistito ad una larga introduzione di prodotti vegetali in campo microbiologico. Questa nuova tendenza si deve, da un lato, alla diffusione sempre maggiore di microrganismi resistenti alle terapie classiche, dall'altro alla sempre più evidente attività antimicrobica dei prodotti fitoterapici, tra cui gli oli essenziali (OE) (1-3). Le resistenze ai farmaci possono insorgere in quanto i batteri e i lieviti possono "mutare", cambiando velocemente le proteine di membrana per non essere più riconoscibili dai farmaci. Ad es. alcuni batteri secernono, a scopo difensivo, degli enzimi come le endo e le eso β-lattamasi, o le transferasi, in grado di inattivare, rispettivamente, gli antibiotici β-lattamici e gli aminoglucosidi. Nei lieviti, invece, la resistenza agli antimicotici, in particolare agli azoli, può insorgere a seguito di modificazioni delle pompe di efflusso o alla drastica riduzione (50%) del livello di ergosterolo nelle membrane plasmatiche, che non può più costituire il sito bersaglio del farmaco. Oltre a queste problematiche, gli antibiotici ad oggi utilizzati nei confronti dei diversi microrganismi si dimostrano talora tossici, soprattutto in pazienti sottoposti a cure prolungate, e possono alterare il benefico microbioma, tanto importante per l'eubiosi intestinale e per l'intero organismo. Questi farmaci, aumentando la disbiosi, creano un terreno ideale per ulteriori infezioni (recidive) e conseguenti episodi acuti. Per contro, gli OE, contenendo naturalmente centinaia di princìpi attivi in proporzione variabile, annullano il rischio di antibiotico-resistenza, poiché i microbi non riescono ad adattarsi alla loro struttura eterogenea. Per questo motivo, oggi, gli OE vengono saggiati per valutare la possibilità di "sfruttarli" a livello clinico. Da molti dati in letteratura, pur frammentari e incompleti, emerge che gli antimicrobici naturali, ottenuti dalle piante, sono attivi contro virus, batteri, funghi e parassiti, sono in grado di eliminare i patogeni, preservando i microrganismi "amici", non danneggiano l'organismo, non producono accumuli per il fegato o i reni, stimolano il sistema immunitario e non determinano resistenza e, pertanto, possono essere utilizzati sia per prevenire, sia per trattare un'infezione. Tuttavia, i dati microbiologico-clinici promettenti sono spesso insufficienti, anedottici e non basati sull'uso di metodologie convalidate e di modelli sperimentali con buona predittività per l'uso clinico. In questo senso, risulta importante introdurre dei metodi standardizzati per la valutazione *in vitro* ed *in vivo* dell'attività degli OE, come avviene per i farmaci convenzionali e il loro impiego terapeutico deve essere accompagnato da una valida base scientifica con risultati che confermino (o smentiscano) l'attività terapeutica ipotizzata, in quanto è bene ricordare che gli OE, pur dando minori effetti collaterali, non sono innocui se usati in modo non corretto. Per effettuare una valida valutazione dell'attività antimicrobica degli OE e un confronto di efficacia con i farmaci convenzionali, è importante sottoporli ai parametri microbiologici classici, come ad es., la valutazione della minima concentrazione inibente e microbicida, l'effetto post-antibiotico, l'antibiogramma/aromatogramma, ecc. Inoltre, poiché è ormai noto che l'efficacia terapeutica di un agente antimicrobico convenzionale non dipende solo dalla sua azione sul microrganismo, ma anche dall'influenza esercitata sulle funzioni del sistema immunitario dell'ospite nell'eradicazione dell'agente infettivo, è bene conoscere anche per gli OE la loro possibile influen-

Dip. Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Sezione di Microbiologia, Università di Torino

za sui meccanismi di difesa dell'ospite, in modo da favorire composti che siano in grado di stimolarli o, se non altro, di non interferire negativamente con essi (4,5).

Il nostro gruppo di ricerca si occupa già da molti anni sia dell'attività *in vitro* di degli antimicrobici e degli antifungini nei confronti di batteri e miceti (lieviti e funghi filamentosi), agenti di patologie nell'uomo e nell'animale, sia dell'influenza di questi farmaci sul sistema immunitario innato dell'ospite sano e immunocompromesso. Ne consegue che abbiamo voluto, con lo stesso approccio scientifico usato per i farmaci convenzionali, valutare l'attività *in vitro* e l'influenza sul sistema immunitario di numerosi OE (ad es. timo, pino, chiodi di garofano, lavanda, melissa, salvia, finocchio, e altri) e dei loro componenti (timolo, carvacrolo, eugenolo, ecc.) nei confronti di lieviti (*Candida* spp. e non *Candida* spp.) e miceti filamentosi, paragonandole a quelle osservate per i principali farmaci antifungini usati in terapia.

Dai diversi studi è emersa una reale efficacia degli OE ed, in particolare, di alcuni di essi, di inibire la crescita dei lieviti e di miceti filamentosi (dermatofiti, *Fusarium*), già a basse concentrazioni. E' il caso dell'OE di timo rosso (chemotipo a carvacrolo), pino, chiodi di garofano, origano che hanno dimostrato di essere i più efficaci, mostrando valori di MIC in alcuni casi anche molto bassi, soprattutto verso i ceppi di *C.glabrata e C.krusei*. I rilevamenti di questi dati sono di grandissima importanza alla luce delle evidenti resistenze che molti ceppi di *C.glabrata* hanno dimostrato nei confronti delle terapie tradizionali con azoli e del fatto che *C.krusei* è naturalmente resistente al fluconazolo (FLZ). Non sorprende il fatto che gli OE di timo, chiodi di garofano e origano presentino una elevata inibizione della crescita fungina, poiché i loro componenti principali sono fenoli, quali timolo, carvacrolo, eugenolo, composti caratterizzati da elevata bioattività.

L'OE di pino sorprendentemente ha mostrato, per alcuni ceppi di *Candida* spp., un'attività inibente più elevata rispetto al timo, chiodi di garofano, origano, e i suoi maggiori componenti sono idrocarburi terpenici che, come molti studi hanno già dimostrato, possiedono elevate capacità antimicrobiche, non solo nei confronti dei miceti, ma anche verso batteri e virus, dimostrandosi una delle classi di composti di origine vegetale più attiva in questo senso.

Per esaminare l'azione degli OE sul sistema immunitario, l'influenza dell'OE di timo rosso, a concentrazioni subMIC/MIC, è stata valutata sull'attività di killing intracellulare dei PMN umani nei confronti di *C.albicans* timo-sensibile e *C.krusei* FLZ/anidulafungina (AND)-resistente. L'attività di killing del timo è stata paragonata con quella del FLZ, della caspofungina (CAS) e dell'AND, alcuni dei farmaci più utilizzati nella profilassi e nel trattamento delle candidosi. Per evidenziare, infine, se l'azione dell'olio fosse rivolta più al lievito o al fagocita, è stato valutato il killing extracellulare di *C.albicans* da parte dell'olio in assenza di PMN. I risultati hanno evidenziato che l'OE di timo stimola significativamente l'uccisione di *C.albicans* e *C.krusei* intracellulari da parte dei PMN rispetto a quelli di controllo privi di OE, con percentuali di killing sovrapponibili (per *C.albicans*) o superiori (per *C.krusei*) a quelle osservate con FLZ e AND. I sistemi contenenti CAS invece inibiscono ulteriormente la sopravvivenza di *C.albicans*, con attività fungicida superiore a quella dell'OE e FLZ. In assenza di PMN, l'attività dell'OE, sovrapponibile a quella di CAS, ma superiore a quella in presenza di AND, è risultata solo fungistatica, suggerendo che l'aumentato killing intracellulare da parte dei PMN sia ascrivibile ad una interazione positiva tra OE e fagociti, analogamente a quanto osservato con i farmaci convenzionali.

Poiché i dati ottenuti confermano il potenziale applicativo degli OE, è auspicabile che le varie ricerche sperimentali e cliniche continuino, al fine di migliorare le indicazioni, le modalità e i limiti di questi agenti terapeutici.

Bibliografia

1) Ciorba V, Odone A, Veronesi L, Pasquarella C, Signorelli C. (2015) Antibiotic resistance as a major public health concern: epidemiology and economic impact. Ann Ig, 27:562-79.

2) Wiederhold NP, Patterson TF (2015). What's new in antifungals: an update on the *in-vitro* activity and *in-vivo* efficacy of new and investigational antifungal agents. Curr Opin Infect Dis. Sep 15. [Epub ahead of print].

3) Tullio V, Nostro A, Mandras N, Dugo P, Banche G, Cannatelli Ma, Cuffini AM, Alonzo V, Carlone NA (2007). Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods. J Appl Microbiol, 102: 1544-1550.

4) Tullio V, Mandras N, Scalas D, Allizond V, Banche G, Roana J, Greco D, Castagno F, Cuffini AM, Carlone NA (2010). Synergy of caspofungin with human polymorphonuclear granulocytes for killing *Candida albicans*. Antimicrob Agents Chemother, 54: 3964-3966.

5) Tullio V, Mandras N, Allizond V, Nostro A, Roana J, Merlino C, Banche G, Scalas D, Cuffini AM. (2012). Positive interaction of thyme (red) essential oil with human polymorphonuclear granulocytes in eradicating intracellular *Candida albicans*. Planta Med, 78: 1633-1635.