

**Claudia Gianni**

Responsabile Ambulatorio micologia e parassitologia dermatologica, Centro Diagnostico Italiano (Milano) e Clinica San Carlo (Paderno Duagnano)

## Attività antinfiammatoria intrinseca di bifonazolo crema 1%

### Revisione della letteratura e utilizzo nel trattamento delle micosi superficiali a moderata componente flogistica sostenute da *T. rubrum*, *Candida spp*, *Malassezia spp* in una casistica di 90 casi

#### Introduzione

Il bifonazolo è un isomero non clorurato del clotrimazolo utilizzato fin dal 1983 per il trattamento di infezioni cutanee da lieviti (*Candida spp* e *Malassezia spp*) e dermatofiti (*Trichophyton spp*, *Microsporum spp*, *Epidermophyton spp*)<sup>1</sup>. Questo studio, condotto su 90 pazienti, ha lo scopo di dimostrare *in vivo* l'attività antinfiammatoria intrinseca del bifonazolo crema 1% nel trattamento delle comuni infezioni micotiche superficiali talvolta associate a moderata componente flogistica: intertrigo da *Candida spp*, tinea cruris da *T. rubrum*, dermatite seborroica ricorrente, affezione in cui è stato dimostrato da tempo un ruolo chiave sostenuto dai lieviti *Malassezia spp*. Osservazioni cliniche segnalate in passato e studi recenti *in vivo* e *in vitro* hanno infatti dimostrato un'attività antinfiammatoria intrinseca della molecola, che potrebbe essere sfruttata per ridurre i sintomi quali prurito, bruciore, desquamazione ed eritema nei pazienti affetti da micosi superficiale a moderata componente flogistica<sup>2-5</sup>.

#### Casistica e risultati

Lo scopo dello studio è stato di testare *in vivo* l'attività antiflogistica intrinseca del bifonazolo crema 1% in 90 pazienti: 30 affetti da intertrigo da *Candida spp* (12 sottomammare; 10 cavi ascellari; 8 inguinali), 30 con tinea cruris da *T. rubrum* e 30 con dermatite seborroica (8 padiglione

auricolare esterno, 16 piega nasogeniena e centro volto, 6 regione presternale). Venivano arruolati 90 pazienti (54 femmine e 36 maschi di età compresa tra i 32 e 65 anni) e divisi in due gruppi. Al primo gruppo di 45 pazienti veniva prescritta terapia con bifonazolo crema 1% un'applicazione al giorno per due settimane, al secondo gruppo di 45 pazienti bifonazolo crema 1% associato a idrocortisone 1%. I pazienti selezionati per lo studio lamentavano alla visita sintomi correlati a una componente flogistica moderata: prurito o lieve bruciore, moderato eritema, desquamazione/macerazione lieve/moderata. Ai pazienti veniva chiesto di non assumere antinfiammatori sistemici e venivano esclusi dallo studio i pazienti diabetici, con familiarità o storia personale di psoriasi, con allergie da contatto note. In corso di prima visita veniva effettuato il prelievo di squame cutanee per esecuzione di esame microscopico diretto in clorallattofenolo e colturale nei pazienti affetti da intertrigo. I pazienti con dermatite seborroica venivano reclutati in base a parametri clinici: sede, caratteristiche di eritema e desquamazione, ricorrenza periodica stagionale. La classificazione dell'eritema è stata valutata quantitativamente su una scala da 0 a 3 punti: 0 = nessuno (nessun eritema); 1 = lieve (rosso lieve); 2 = moderata (chiaramente rosso); 3 = grave (rosso purpureo). Tutti i pazienti presentavano un grado 1 o 2 di eritema. La desquamazione/macerazione è

stata valutata da osservazione clinica utilizzando sempre una scala da 0 a 3 punti: 0 = nessuna (senza desquamazione/macerazione); 1 = lieve (piccole e rare squame, lieve macerazione); 2 = moderata (squame di piccola e media dimensione, moderata macerazione); 3 = grave (abbondanti squame in parte aderenti, macerazione intensa con spacchi ragadiformi). Tutti i pazienti rientravano nei gruppi 1 o 2. La valutazione del prurito/bruciore è stata effettuata soggettivamente 0 = nessun prurito; 1 = prurito lieve; 2 = prurito moderato; 3 = prurito molto intenso. Tutti i pazienti rientravano nei gruppi 1 o 2. I pazienti reclutati seguivano la terapia locale per due settimane (un'applicazione alla sera da mantenere in posa tutta la notte oppure al mattino, in caso di dermatite seborroica del volto e del padiglione auricolare) e si ripresentavano dopo la prima settimana di trattamento e in terza settimana per un nuovo controllo e nuova esecuzione dei test micologici. Nessun paziente ha interrotto il trattamento dopo 2 settimane, nessuno ha lamentato eritema o effetti fototossici in caso di applicazione mattutina al volto e casuale fotoesposizione. Al primo controllo, dopo una settimana, potevano essere già osservati apprezzabili miglioramenti clinici (Fig. 1a-b, Fig. 2a-b, Fig. 3a-3b). In particolare non si osservavano significative differenze tra i due gruppi trattati. Infatti, riguardo alle scale di misurazione adottate, prurito, eritema e desquamazione/macerazione risultavano migliorati

**FIGURA 1A.**

*Tinea cruris bilaterale a moderata componente infiammatoria presente da circa due mesi in uomo di 36 anni.*

**FIGURA 1B.**

*Il paziente dopo una settimana di trattamento con bifonazolo crema 1%.*



di un punto nell'88% del primo gruppo e nell'86% dei pazienti nel secondo gruppo trattato con l'aggiunta di idrocortisone 1%. L'esame microscopico diretto eseguito in terza settimana risultava negativizzato nell'93,5% dei pazienti affetti da intertrigo candidosiche e dermatofitiche. La guarigione clinica alla fine della terza settimana è stata di 78 pazienti su 90 (86,6%). I 12 pazienti che presentavano ancora evidenza dell'affezione cutanea erano appartenenti

prevalentemente al gruppo della dermatite seborroica (8 pazienti), a dimostrazione ancora una volta che tale patologia presenta un'etiologia multifattoriale che potrebbe non risolvere con il solo abbattimento della carica di *Malassezie* locali<sup>6</sup>. Le restanti 4 pazienti migliorate, ma non guarite, appartenevano al gruppo delle intertrigo candidosiche e presentavano ancora moderato eritema e macerazione in sede sottomammaria o ascellare.

**Discussione**

Le infezioni fungine cutanee sono spesso associate a una componente infiammatoria che si manifesta con eritema, desquamazione, prurito e bruciore. È stato dimostrato che alcune molecole ad attività antifungina possiedono anche attività antinfiammatoria intrinseca e perciò hanno il potenziale di fornire un beneficio clinico al di là dell'eradicazione del micete. In questo studio quindi si è cercato di determinare l'entità dell'attività antinfiammatoria in vivo, in particolare del bifonazolo in formulazione di crema 1%. Il bifonazolo espleta la propria attività terapeutica inibendo l'attività enzimatica della cellula fungina, che porta alla formazione dell'ergosterolo, costituente fondamentale della membrana cellulare. L'assenza di questo elemento e l'accumulo dei suoi cataboliti determinano alterazioni nella costituzione della membrana cellulare fungina stessa e portano a un'azione fungicida<sup>7-9</sup>. L'assorbimento di bifonazolo nelle cellule fungine raggiunge un massimo dopo solo 20-30 min, e il farmaco vi permane per circa 120 h, inibendo la biosintesi dell'ergosterolo continuamente. Questo porta a una progressiva perdita di virulenza da parte del micete, utile per prevenire la contaminazione dell'infezione nell'ambiente e sullo stesso paziente<sup>10</sup>. Il farmaco raggiunge elevate concentrazioni in tutti gli strati dell'epidermide e un completo effetto fungicida dopo 6 h dall'applicazione cutanea, con una concentrazione di 5 g/ml nello strato papillare del derma. Il tempo di permanenza nella cute a concentrazione attiva, in esperimenti condotti sulle cavie, è 48-72 ore. Quindi l'azione del bifonazolo è favorita dal suo effetto terapeutico prolungato, legato al fatto che elevate concentrazioni utili sono trattenute dalla pelle per 40-72 h, e ciò permette, vantaggiosamente, una sola somministrazione giornaliera del farmaco<sup>7-9</sup>. Il bifonazolo risulta infatti, per questa sua caratteristica, una molecola di scelta nel trattamento delle micosi superficiali poiché, a differenza degli altri imidazolici, può essere utilizzato con una sola applicazione al dì. Solo dopo tre anni dalla commercializzazione del bifonazolo, iniziarono a essere pubblicate le prime osservazioni riguardanti le sue proprietà intrinseche antinfiammatorie. Sfruttando l'attività vasodilatante dell'i-

stamina, in uno studio su 10 soggetti sani, Petri et al. dimostrarono che, se la cute di un soggetto sano veniva pretrattata per due ore in occlusiva con bifonazolo, mostrava una reazione allergica meno evidente rispetto a un soggetto non pretrattato, se inoculata con istamina<sup>2</sup>. Sulla base dei risultati ottenuti da Petri et al., uno studio dell'Università di Osaka due anni dopo confrontava l'attività antinfiammatoria del bifonazolo crema con bifonazolo crema base e prednisolone acetato. Il test consisteva nel pretrattare per due ore in occlusiva aree misurate della faccia volare dell'avambraccio di soggetti sani con bifonazolo crema, con bifonazolo crema base e con prednisolone acetato e poi inoculare 0,01 ml, 1:10000 di istamina. Nell'altro avambraccio l'istamina veniva inoculata senza pretrattamento. Le osservazioni a 15, 30, 60 e 90 minuti evidenziavano come i pomfi pretrattati con bifonazolo crema e prednisolone acetato presentavano dimensioni inferiori rispetto a tutti gli altri pomfi. Un secondo test veniva effettuato provocando il fenomeno infiammatorio mediante irraggiamento del dorso di soggetti sani con dosi crescenti di UVB su aree demarcate e pretrattate per due ore sempre con bifonazolo crema, con bifonazolo crema base e con prednisolone acetato. All'osservazione dopo una, due, tre e sette ore dall'irraggiamento, l'area pretrattata con bifonazolo crema e quella con prednisolone acetato presentavano aree con minor eritema ed edema e di dimensioni sovrapponibili. In entrambi i gruppi testati veniva quindi dimostrata un'efficacia antiflogistica del bifonazolo paragonabile a prednisolone acetato crema<sup>3</sup>. Nel '90 Petri avvalorò la sua tesi riportando uno studio in doppio cieco su 69 pazienti trattati con bifonazolo crema 1% verso clotrimazolo 1% + idrocortisone, dimostrando ancora una volta la più pronta attività antiflogistica del bifonazolo dopo pochi giorni di applicazione rispetto a clotrimazolo 1% + idrocortisone<sup>4</sup>. Più recentemente uno studio simile, ripetuto utilizzando come molecola di confronto l'idrocortisone 1% e come mezzo di indagine la termografia, ha nuovamente dimostrato questi dati nel trattamento della *tinea pedis*<sup>5</sup>. Agli inizi degli anni '90, partendo dall'osservazione che i leucotrieni, prodotti della via delle lipoossigenasi a par-

**FIGURA 2A.**

*Candidosi ascellare uomo 51 anni presente da due settimane.*

**FIGURA 2B.**

*Candidosi ascellare uomo 51 anni dopo 1 settimana di trattamento con bifonazolo crema 1%.*



tire dall'acido arachidonico, svolgono svariate funzioni nel fenomeno infiammatorio, incluso quello di indurre contrazione delle cellule endoteliali e vasodilatazione, Bremm e Pempel hanno saggiato l'attività del bifonazolo sul loro metabolismo. Di rilevante interesse è risultato lo studio riguardante il leucotriene B4 (LTB4), attore principale nel

regolare il movimento orientato dei leucociti nel processo infiammatorio (chemotassi). Nel loro studio Bremm e Pempel hanno utilizzato granulociti neutrofili (PMN) stimolati con il Ca-ionoforo A23187 in presenza di bifonazolo. Successivamente venivano analizzati i supernatanti per il loro contenuto in leucotriene. I risultati dimostrarono

**FIGURA 3A.**

*Dermatite seborroica ricorrente in uomo di 52 anni, padiglione auricolare sostenuta da *Malassezia spp.**

**FIGURA 3B.**

*Dermatite seborroica padiglione auricolare dopo 1 settimana di trattamento con bifonazolo crema 1%.*



che il bifonazolo inibiva l'omega-ossidazione già a concentrazioni basse, come 0,5 microgrammi ml<sup>-1</sup>. A concentrazioni di 64 microgrammi ml<sup>-1</sup> il bifonazolo bloccava totalmente la formazione di leucotrieni nei granulociti umani. L'esperimento ha reso evidente che il bifonazolo, in aggiunta alla nota azione antimicotica, mostrava anche una spiccata attività modulante sul metabolismo dei leucotrieni<sup>11</sup>. Successivi studi sulle molecole che intervengono nei fenomeni del processo infiammatorio evidenziarono che il Ca<sup>2+</sup> che si libera in seguito all'azione dell'istamina, si lega alla calmodulina e il complesso ca-calmodulina attiva una serie di bersagli, tra cui il NO sintasi, la quale degrada l'arginina a citrullina. Nel processo di trasformazione dell'arginina nell'aminoacido citrullina si libera una molecola di ossido nitrico (NO) con note proprietà vasodilatanti. Inoltre si evidenziò che la calmodulina è coinvolta nella regolazione di varie risposte cellulari, inclusa la sintesi di prostaglandine e rilascio di istamina da parte delle mast cellule<sup>12</sup>. Sulla base di queste osservazioni Lutz et al. studiarono l'interazione tra vari derivati azolici e calmodulina in un lavoro del 1993<sup>13</sup>. Utilizzando fosfodiesterasi calmodulina-dipendente come indicatore per l'attività della calmodulina, veniva testata la capacità di cinque derivati azolici (incluso bifonazolo) e sei antifungini non azolici di inibire l'attività della calmodulina. Tutti i derivati azolici e in particolar modo il bifonazolo, mostravano un'attività inibente dose dipendente almeno del 50%. Al contrario, per i farmaci antifungini appartenenti agli altri gruppi chimici (griseofulvina, nistatina, ciclopiroxolamina, tolnaftato, amfotericina B e 5-fluorocitoina) non veniva evidenziata attività inibitoria sulla calmodulina. Lo studio è risultato utile per dimostrare che l'interazione diretta con calmodulina potrebbe contribuire all'attività terapeutica di derivati azolici, in particolare per la loro efficacia nel trattamento di malattie infiammatorie della pelle. Sono numerose infatti le patologie infiammatorie cutanee in cui si sono dimostrati alti valori di calmodulina, inclusa la psoriasi<sup>14 15</sup>. Tutti gli studi riportati hanno quindi dimostrato che la somministrazione topica di bifonazolo comporta un'attività antinfiammatoria efficace contro un ampio spettro

di modelli di infiammazione cutanee. Nel nostro lavoro avvaloriamo questa tesi, poiché non abbiamo riscontrato differenze significative nei due gruppi di studio. In conclusione, quando la componente flogistica dell'infezione risulta di entità moderata, le proprietà antinfiammatorie intrinseche del bifonazolo possono quindi contribuire all'efficacia del farmaco nel trattamento delle infezioni fungine cutanee, portando contemporaneamente a rapido sollievo dai sintomi e fornendo cura micologica in monosomministrazione.

### Bibliografia

- 1 Lackner TE, Clissold SP. *Bifonazole. A review of its antimicrobial activity and therapeutic use in superficial mycoses.* Drugs 1989;38:204-25.
- 2 Petri H, Tronnier H, Haas P. *Investigations into the anti-inflammatory effect of bifonazole.* In: Hay RJ, editor. *Advances in topical antifungal therapy.* New York: Springer-Verlag 1986, pp. 26-31.
- 3 Shoji A. *Skin irritation with topical antifungal agents and the anti-inflammatory effects of bifonazole.* Int J Clin Pract 1988, Symposium Suppl, First Asian Pacific.
- 4 Petri H, Bremm KD, Haas P, et al. *Experimental and clinical investigations on the antiphlogistic effect of bifonazole.* Z Hautkr 1991;66:150-6.
- 5 Tronnier H, Herling M, Wiebusch M, et al. *Untersuchungen zur antiphlogistischen Wirkung von bifonazol.* Akt Dermatol 2005;31:21-6.
- 6 Gupta AK, Nicol K, Batra RA. *Role of antifungal agents in the treatment of seborrheic dermatitis.* J Clin Dermatol 2004;5:417-22.
- 7 Botta M, Corelli F, Gasparrini F, et al.; Chiral Azole Derivatives. *Enantiomers of bifonazole and related antifungal agents: synthesis, configuration assignment, and biological evaluation.* J Org Chemistry 2000;65:4736-9.
- 8 Plempel M, Regel E, Buchel KH. *Antimycotic efficacy of bifonazole in vitro and in vivo.* Arzheim-Forsch 1983;33:517.
- 9 El Hage S, Lajoie B, Feuillolay C, et al. *Synthesis, antibacterial and antifungal activities of bifonazole derivatives.* Arch Pharm (Weinheim) 2011;344:402-10.
- 10 Plempel M, Berg D, Ritter W. *Bifonazole, a new topical azole antimycotic with specific properties.* In: Hay RJ, editor. *Advances in topical antifungal therapy.* New York: Springer Verlag 1986, pp. 4-20.
- 11 Bremm KD, Plempel M. *Modulation of leukotriene metabolism from human polymorphonuclear granulocytes by bifonazole.* Mycoses 1991;34:41-5.
- 12 Tomlinson S, MacNeil S, Walker SW, et al. *Calmodulin and cell function.* Clin Sci 1984;66:497-508.
- 13 Hegemann L, Toso SM, Lahijani KL, et al. *Direct interaction of antifungal azole-derivatives with calmodulin: a possible mechanism for their therapeutic activity.* J Investig Dermatol 1993;100:343-6.
- 14 Van der Kerkhof PCM, Van Erp PEJ. *Calmodulin levels are grossly elevated in the psoriatic lesion.* Br J Dermatol 1983;108:217-8.
- 15 Tucker WFG, MacNeil S, Dawson RA, et al. *Calmodulin levels in psoriasis: the effect of treatment.* Acta Dermatol Venereol (Stockh) 1986;66:241-4.