

HERICIUM ERINACEUS E CALPROTECTINA FECALE NELLE PATOLOGIE INFIAMMATORIE CRONICHE DELL'INTESTINO

*Il dosaggio della calprotectina è un'analisi utile per distinguere le diverse patologie infiammatorie che interessano l'intestino. In questo studio osservazionale è stata valutata l'efficacia di un'integrazione con una particolare formulazione del fungo *Hericium erinaceus* in pazienti affetti da sindrome del colon irritabile, colite ulcerosa, morbo di Crohn e altre patologie che comportano infiammazione intestinale con aumento dei livelli della concentrazione di questa proteina.*

* **Stefania Cazzavillan**

Abstract

La Calprotectina è una proteina del gruppo delle S-100 che ha numerose funzioni cellulari. È uno dei principali costituenti (60% delle sostanze solubili e 5% delle protei-

ne totali) del citoplasma dei granulociti neutrofili, ma si trova anche nei monociti e nelle cellule epiteliali. In corso di infiammazione intestinale, i leucociti attraversano la parete intestinale e rilasciano la calprotectina nel lume intestinale così che possiamo risconrarla e determinarne la concentrazione attraverso un'analisi delle feci. La concentrazione di calprotectina

fecale (FC = *fecal calprotectin*) correla con il numero di granulociti che attraversano la mucosa e arrivano al lume intestinale. Tale dosaggio può essere molto utile nel distinguere un colon irritabile (IBS = *irritable bowel syndrome*) da una patologia infiammatoria intestinale (IBD = *inflammatory bowel disease*) come il morbo di Crohn (CD) e la rettocolite ulcerosa (UC)

sia negli adulti che nei bambini. La concentrazione di FC correla con la gravità della condizione clinica e dell'infiammazione, con il livello di attività di patologie come il morbo di Crohn e la rettocolite ulcerosa, e può essere usato per monitorare l'andamento di malattia e per ottimizzare l'intervento terapeutico nei pazienti con patologie croniche e cronico-degenerative intestinali. Il dosaggio della FC è una strategia diagnostica che può evitare inutili colonoscopie, le quali, oltre a essere invasive, poco tollerate e costose, possono avere rischi associati.

La FC è un marker stabile di infiammazione (non viene degradata facilmente), è facilmente determinabile con l'analisi delle feci e per questo può essere utilizzata come strumento di screening per identificare pazienti con IBD, distinguendoli da quelli con IBS che non necessitano di colonoscopia.

Molte altre patologie diverse dalla IBD, come le parassitosi e le patologie neoplastiche, coinvolgono il tratto gastroenterico e possono aumentare i livelli di FC.

Hericium erinaceus è un fungo noto da oltre 1000 anni nella tradizione medica orientale, principalmente in Cina e in Giappone, dove è stato usato per numerose problematiche di salute. *H. erinaceus* contiene numerose molecole biologicamente attive con attività antinfiammatoria, anti-batterica, anti-tumorale e citotossica, e molecole molto particolari a basso peso molecolare, erinacine nel micelio ed ericenoni nel corpo fruttifero, in grado di attraversare la barriera ematoencefalica e di stimolare la sintesi di *Nerve Growth Factor* (NGF) a livello cerebrale.

Numerosi studi hanno dimostrato la sua capacità di migliorare situazioni infiammatorie gastroenterostinali, dalla gastrite alle malattie cronico-degenerative dell'intestino quali IBD, UC e CD.

In questo studio osservazionale 56 pazienti, 23 UC, 12 CD, 11 IBD

e 10 con situazioni infiammatorie intestinali diverse (carcinoma colo-rettale, mesotelioma peritoneale, e parassiti intestinali), tutti con elevati livelli di FC iniziale (T0) sono stati supplementati per 3 mesi con 2 grammi al giorno (1 grammo prima di pranzo e 1 grammo prima di cena) con una particolare formulazione di *H. erinaceus*, costituita da 80% di micelio e corpo fruttifero e 20% di estratto idroalcolico (A.V.D. Reform S.r.l., Noceto, Italy). Dopo 3 mesi è stata effettuata la rivalutazione della FC (T3) che era significativamente ridotta in tutti i gruppi. Il gruppo con UC ha evidenziato una riduzione del 74,5%; il gruppo CD del 74,8%; il gruppo con IBD del 75,8% e il gruppo con problematiche miste una riduzione del 70,1%. Tutti i soggetti hanno riportato notevole miglioramento o remissione dei sintomi e miglioramento della qualità della vita.

L'integrazione con questa particolare formulazione di *H. erinaceus* ha portato a un significativo controllo dell'infiammazione, confermato da una importante riduzione dei livelli di FC.

Questi dati forniscono un razionale per utilizzare *H. erinaceus* come potenziale supporto preventivo e come trattamento complementare di patologie infiammatorie gastro-intestinali.

Parole chiave: Faecal calprotectin (FC), *Hericium Erinaceus*, malattie infiammatorie intestinali, Crohn's disease (CD), Ulcerative Colitis (UC), inflammatory bowel disease (IBD), irritable bowel syndrome (IBS).

Introduzione

L'incidenza delle malattie infiammatorie intestinali (IBD) sta aumentando in tutto il mondo. La UC e il CD, le principali forme di IBD, sono malattie infiammatorie croniche del tratto gastrointestinale, per le quali viene fatta una diagnosi tramite dati clinici, endoscopici,

anatomo-patologici e radiologici (Ponder A, *et al.*, 2013)

Con IBD sono state descritte numerose altre forme quali colite collagenosa, colite eosinofila, colite linfocitica, colite ischemica, malattia di Behçet, e colite indeterminata. I sintomi tipici di pazienti con IBD sono dolore e disagio intestinale con diarrea o stipsi, sangue nelle feci, stanchezza, difficoltà di concentrazione e alterazioni dell'umore. Tali malattie, spesso croniche, evidenziano alternanza di fasi attive e fasi di remissione dei sintomi. (Xavier RJ, *et al.*, 2007)

La IBS è una condizione infiammatoria intestinale più lieve, conosciuta anche come colon irritabile, per la quale non vi sono evidenze cliniche particolari se non l'alterazione della regolarità intestinale, il disagio e a volte il dolore, che però può interferire con le normali attività giornaliere. Normalmente la FC non è elevata nella IBS, mentre lo è nelle IBD.

Il trattamento della medicina convenzionale è generalmente orientato al controllo dei sintomi, principalmente dolore e infiammazione.

La valutazione del livello dell'infiammazione è essenziale per definire una adeguata terapia e per definire una prognosi. I sintomi infatti a volte sono aspecifici e non correlano direttamente con l'infiammazione riscontrabile a livello di mucosa. (Baars JE, *et al.*, 2012; Crama-Bohouth G, *et al.*, 1989; Gomes P, *et al.*, 1986). Ciò significa che una sintomatologia dolorosa non è necessariamente correlata con un'infiammazione di mucosa evidente alla colonoscopia. Nello stesso tempo marker di infiammazione come la proteina C reattiva (PCR), la sedimentazione degli eritrociti (VES), e il livello di leucociti ematici, pur riflettendo una condizione di infiammazione sistemica, non sono indicativi di ciò che realmente succede a livello della mucosa intestinale. (Foell D,

et al., 2009)

Attualmente l'endoscopia (colonscopia) è considerata il metodo diagnostico di elezione per valutare l'infiammazione di mucosa e per effettuare una diagnosi più precisa, oltre che per definire la gravità della condizione clinica. (Stange EF, et al., 2008; Van Assche G, et al., 2010).

La colonscopia, tuttavia, è un metodo diagnostico invasivo, dispendioso e a rischio di complicazioni. Il dosaggio della FC è un test non invasivo, semplice, affidabile e che permette di valutare il grado di infiammazione e di monitorare l'andamento di una IBD, permettendo così di intervenire tempestivamente sul controllo dei sintomi.

Calprotectina come marker per le IBD

La FC è una proteina di 36-kDa della famiglia delle S-100, che rappresenta il 60% delle proteine citoplasmatiche dei granulociti (Vermeire S, et al., 2006) con attività antimicrobica, immunomodulante e antiproliferativa. Scoperta nel 1980, è costituita da 2 catene pesanti e una catena leggera, legate con legami non covalenti (Fägerhol MK, et al. 1990).

La FC è presente in elevate quantità nella membrana mucosa dell'epitelio squamoso infiammato, ma non nella normale mucosa intestinale. In condizioni normali la sua concentrazione nelle feci è di circa 50 µg/g (un po' più elevata nei neonati). In corso di infiammazione intestinale, i leucociti attraversano la parete intestinale e rilasciano la calprotectina nel lume intestinale così che possiamo risconstrarla e determinarne la concentrazione attraverso un'analisi delle feci. La concentrazione di calprotectina nelle feci è proporzionale alla quantità di leucociti che migrano attraverso la parete intestinale fino alla mucosa infiammata (Schoepfer AM, et al., 2008; Voganatsi A, et al., 2001).

Anche se l'endoscopia rimane il metodo diagnostico di elezione per

la diagnosi differenziale tra IBS e IBD e per la valutazione dell'attività di malattia, non è l'ideale per la sua invasività, che la rende poco tollerata e aumenta il rischio di complicazioni, e per i costi elevati. (Cobb WS, et al., 2004)

Inoltre, con questo metodo di indagine, non è sempre semplice calcolare e interpretare l'attività di malattia, caratteristica che limita la sua rilevanza nella pratica clinica (Sipponen T, et al., 2010; Travis SP, et al., 2013).

Per queste ragioni si ricercano marker più accurati e meno invasivi, che permettano di limitare l'uso dell'endoscopia ai soli casi nei quali essa sia strettamente necessaria. La FC è un primo step diagnostico che permette di guidare i percorsi diagnostico-terapeutici nelle malattie infiammatorie croniche gastrointestinali, evitando inutili colonscopie e rendendo più agile il follow up. È stato stimato che il dosaggio della FC permette di ridurre del 67% la richiesta di endoscopie. Una concentrazione elevata di FC è un parametro che indirizza alla colonscopia per escludere IBD o altre patologie intestinali. Bassi livelli di FC escludono invece la necessità di procedere con la colonscopia (Van Rheenen, et al., 2010; Viennois et al., 2015).

Alti livelli di FC correlano infatti con elevata attività e gravità di malattia e possono prevedere eventuali ricadute di UC, CD o altre forme di IBD ottimizzando la terapia (Walsham NE., et al, 2016).

Altre patologie infiammatorie indotte da parassiti quali ad esempio *Giardia lamblia* o da malattie neoplastiche che coinvolgono il tratto gastrointestinale (es. carcinoma colo-rettale) possono aumentare i livelli di FC. Una riduzione o una normalizzazione dei livelli di FC sono un indicatore di miglioramento o di guarigione endoscopica, anche se la conferma finale di tale dato è comunque data dall'endoscopia.

La FC non viene degradata a livello intestinale ed è stabile, una vol-

ta ottenuti i campioni di feci, per 7 giorni a temperatura ambiente (Roseth AG, et al., 1992).

Rispetto ai marker di infiammazione convenzionali (PCR, VES, etc.) la FC è promettente perché permette di valutare il livello di infiammazione presente sulla mucosa intestinale.

Hericium erinaceus

H. erinaceus è un fungo appartenente alla famiglia delle *Hericiaceae*, ordine *Russulales* e classe *Agaricomycetes* (Kirk et al. 2008), che cresce su vecchi alberi di latifoglie, anche se non è facile incontrarlo in natura. È considerato un fungo saprofito che cresce su alberi morti, a volte un debole parassita in quanto può crescere su fessurazioni del legno di alberi vecchi, ma ancora viventi.

In Giappone, *H. erinaceus* è conosciuto come "*Yamabushitake*"; *Yamabushi* letteralmente significa "monaco di montagna" e "*take*" significa fungo. In Cina è chiamato "*Houtou*", che significa "testa di scimmia". È poi conosciuto con molti altri nomi quali "Lion's Mane" (criniera di leone), "Monkey's Mushroom" (fungo scimmia), "Bear's Head" (testa di orso), "White Beard" (barba bianca), "Old Man's Beard" (barba di vecchio) e "Pom Pom" in altre parti del mondo.

Quando maturo, *H. erinaceus* può essere identificato per i numerosi, lunghi e carnosi "aculei" inizialmente bianchi, che si ingialliscono con l'invecchiamento.

È un fungo con incredibili proprietà terapeutiche, senza effetti collaterali descritti. Era molto usato dai Nativi Americani che lo applicavano polverizzato alle ferite per favorire la cicatrizzazione e come antibatterico. La sua lunga storia è però principalmente ascrivibile alla tradizione orientale (Medicina Tradizionale Cinese) nella quale è stato usato per millenni per trattare patologie dello stomaco, ulcere e malattie gastro-intestinali. Recentemente è

stato molto studiato per la scoperta di numerose molecole bioattive, isolate sia dal micelio che dal corpo fruttifero, che spiegano le sue molteplici azioni sulla prevenzione e sul mantenimento della salute, le sue proprietà antibatteriche, antinfiammatorie e antitumorali. Composti a basso peso molecolare caratteristici esclusivamente di questo fungo (erinacine dal micelio ed ericenoni dal corpo fruttifero), in grado di attraversare la barriera emato-encefalica e di stimolare l'espressione del NGF a livello cerebrale, che sono stati isolati recentemente, hanno poi aperto un ulteriore campo di applicazione, ossia quello della prevenzione delle malattie neurodegenerative (Kirk PM, *et al.*, 2008; Moldavan MG, *et al.*; 2007).

Numerosi studi hanno poi dimostrato le sue azioni di miglioramento della funzionalità gastrointestinale e di controllo dell'infiammazione delle malattie gastrointestinali infiammatorie croniche quali le IBD, la UC e il CD. (Abdulla MA., *et al.*, 2008; Han ZH, *et al.* 2013; Shang X, *et al.*, 2013; Li G., *et al.*; 2014; Wang M., *et al.*; 2015; Qin M., *et al.*, 2016).

In questa pubblicazione verrà valutata l'efficacia di un'integrazione di una particolare formulazione di *H. erinaceus* in pazienti affetti da IBD, UC, CD e altre patologie che comportano infiammazione intestinale con aumento dei livelli di FC.

Materiali e metodi

56 pazienti (range di età 7 - 75 anni; età media 48,6) sono stati valutati nell'arco di 3 mesi; 23 presentavano UC (età media 52), 12 CD (età media 49), 11 IBD (età media 44), e 10 erano affetti da condizioni cliniche che determinavano infiammazione intestinale con innalzamento della FC - carcinoma colo-rettale, mesotelioma peritoneale e parassitosi intestinale - (età media 43). In tutti i pazienti con IBD, UC e CD la diagnosi era stata confermata con endoscopia;

la diagnosi di mesotelioma e carcinoma colo-rettale era confermata istologicamente e le parassitosi con analisi delle feci.

Tutti i soggetti coinvolti nell'osservazione presentavano elevati livelli di FC all'inizio dello studio (T0). Tutti i 56 pazienti sono stati supplementati per 3 mesi con 2 grammi al giorno di una particolare formulazione di *H. erinaceus* costituita da 80% di micelio e corpo fruttifero e 20% di estratto idroalcolico (Micotherapy Hericium A.V.D. Reform S.r.l, Noceto, Italy). (Gerbec B., *et al.*, 2015).

Parallelamente è stata consigliata una variazione delle abitudini alimentari con riduzione degli zuccheri raffinati, del glutine e dei latticini con inserimento nella giornata di 2 cucchiaini di olio di lino.

Alcuni pazienti erano sottoposti a trattamento concomitante con steroidi e/o mesalazina, nel caso della IBD, o con chemioterapia nelle patologie oncologiche. Tali trattamenti non sono stati modificati, anche per ridurre le variabili che avrebbero potuto interferire nella valutazione degli effetti dell'integrazione.

La compliance riferita all'assunzione regolare di *H. erinaceus* è stata completa da parte di tutti i soggetti.

Dopo circa 3 mesi è stato effettuato un nuovo dosaggio della FC (T3).

Risultati

I livelli di FC dopo 3 mesi erano significativamente ridotti in tutti i gruppi testati (Grafico 1). Dopo 3 mesi di trattamento (T3) il gruppo UC ha evidenziato una riduzione media della FC del 74,5% rispetto a T0 (Tabella 2); 74,8% è stata la riduzione media della FC nel gruppo CD (Tabella 3); 75,8% nel gruppo IBD (Tabella 4) e 70,1% la riduzione media del gruppo con condizioni cliniche miste (Tabella 5). Tutti i pazienti hanno descritto riduzione dei sintomi sia intestinali (i.e. dolore addominale, sangue nelle feci, stipsi o diarrea) che ex-

traintestinali (stanchezza, ridotta concentrazione, umore) o anche remissione completa dei sintomi con miglioramento della qualità della vita. In alcuni casi c'è stata riduzione della necessità dei farmaci utilizzati per ridurre dolore e infiammazione. Non è stato riportato alcun effetto collaterale.

Discussione

L'insorgenza di patologie infiammatorie croniche del tratto gastrointestinale può avvenire a ogni età. Le principali IBD sono il CD e la UC, anche se ci sono molte forme atipiche di IBD quali la colite collagenosa, linfocitica, eosinofila, ischemica, indeterminata, il morbo di Behçet etc.

Le complicazioni intestinali della IBD sono causate dalla gravità dell'infiammazione che porta allo sviluppo di ulcerazioni della mucosa. Mentre la UC coinvolge l'intestino crasso e le ulcerazioni sono confinate alla mucosa, il CD si può estendere anche all'intestino tenue e le ulcerazioni coinvolgono l'intero spessore dell'intestino. Per questo motivo stenosi, fessurazioni e fistole sono più frequenti nel CD rispetto alla UC. Le stenosi sono collegate a iperescita batterica del tenue (SIBO), le fistole al dolore addominale e le fessurazioni alle infezioni. Quando il CD coinvolge duodeno e digiuno si verifica malassorbimento, malnutrizione e diarrea; il malassorbimento della vitamina B12 può portare ad anemia. La UC invece è collegata a un aumentato rischio di sviluppare carcinoma coloretale.

La FC è un indicatore delle condizioni della mucosa intestinale e fornisce informazioni sul livello di attività della malattia.

Nel trattamento della IBD la mesalazina è il farmaco principalmente usato anche se è più efficace nella UC che nel CD. Nei casi più gravi, per controllare i sintomi, vengono utilizzati chemioterapici o farmaci immunosoppressivi quali prednisone, inibitori del TNF- α , azatioprina, methotrexate, o 6-mercaptop-

Maschio/Femmina	Età	Diagnosi
M	59	UC
M	40	UC
M	58	UC
F	38	UC
M	36	UC
F	65	UC
F	50	UC
M	71	UC
F	74	UC
F	75	UC
F	50	UC
M	62	UC
M	53	UC
M	57	UC
F	58	UC
M	20	UC
F	37	UC
M	48	UC
M	50	UC
M	34	UC
M	56	UC
F	45	UC
F	71	UC
M	53	CD
F	55	CD
F	48	CD
M	59	CD
F	43	CD
F	35	CD
F	68	CD
F	36	CD
F	57	CD
F	36	CD
F	42	CD
F	57	CD
M	22	IBD
F	42	IBD
F	51	IBD
F	47	IBD
M	37	IBD
M	49	IBD
M	57	IBD
F	45	IBD
F	54	IBD
M	46	IBD
F	43	IBD
F	29	<i>Candida albicans</i>
F	39	<i>Dientamoeba fragilis</i>
F	7	parassitosi (non specificata)
M	63	Carcinoma coloretale
M	56	Mesotelioma peritoneale
M	41	Melanosi del colon
M	50	Carcinoma coloretale
M	51	<i>Giardia lamblia</i>
M	57	<i>Giardia lamblia</i>
F	38	<i>Giardia lamblia</i>

Tabella 1: UC=rettocolite ulcerosa; CD=morbo di Crohn; IBD=Inflammatory Bowel Disease. Lista dei pazienti con sesso, età e diagnosi (la diagnosi è stata endoscopica e istologica per tutti i pazienti IBD, UC, CD; *Giardia Lamblia*, *Dientamoeba fragilis* sono state diagnosticate con analisi delle feci; Mesotelioma Peritoneale e carcinoma coloretale sono stati diagnosticati con TAC e istologia)

Maschio/Femmina	Età	Diagnosi	FC T0	FC T3	%miglioramento
M	59	UC	168	19	88,7
M	40	UC	650	26	96
M	58	UC	1300	568	56,3
F	38	UC	82	16	80,5
M	36	UC	397	27	93,2
F	65	UC	485	55	88,7
F	50	UC	512	87	83
M	71	UC	127	24	81,1
F	74	UC	102	32	68,6
F	75	UC	234	53	77,3
F	50	UC	228	49	78,5
M	62	UC	531	112	78,9
M	53	UC	632	73	88,4
M	57	UC	112	48	57,1
F	58	UC	205	39	81
M	20	UC	71	12	83,1
F	37	UC	130	18	86,1
M	48	UC	334	25	92,5
M	50	UC	286	49	82,9
M	34	UC	804	132	83,6
M	56	UC	67	18	73,1
F	45	UC	1300	15	98,8
F	71	UC	62	15	24,2
Riduzione media di FC					74,5%

Tabella 2: gruppo UC – valori a T0 e T3 e percentuale di miglioramento della FC dopo 3 mesi di trattamento con

topurina. Quando i farmaci non riescono a controllare i sintomi, la chirurgia diventa l'unica soluzione possibile.

La medicina complementare focalizza invece sulla modulazione del sistema immunitario e ha l'obiettivo di ridurre l'iperattività immunitaria correlata alla malattia e il danno istologico dato sia dal sistema immunitario che dal prolungato uso di steroidi antinfiammatori.

La riduzione dei livelli di calprotectina è un segnale dell'efficienza dell'intervento naturale sul controllo dell'infiammazione e del danno di mucosa.

La terapia con prebiotici e/o probiotici ha come effetto una riduzione dell'attività infiammatoria e a volte può risultare efficace a livello dei farmaci (Furrie, Elizabeth, *et al.*, 2005).

È stato dimostrato che i funghi medicinali agiscono da prebiotici e stimolano la crescita di un microbiota benefico, contribuendo alla salute dell'ospite.

I funghi contengono β -glucani, polisaccaridi caratterizzati da catene lineari e

ramificate di monomeri di glucosio unite da legami β -1;3 e β -1;6, con frequenza delle ramificazioni e peso molecolare variabile. La funzione di modulazione sul sistema immunitario esercitata dai β -glucani è ben descritta, mentre gli studi sul microbiota sono all'inizio, ma in costante aumento. I β -glucani solubili interagiscono con le cellule del sistema immunitario aspecifico (macrofagi, cellule di presentazione dell'antigene), ne potenziano l'azione e contribuiscono così a riequilibrare il sistema immunitario sistemico. I β -glucani insolubili, indigeribili, ad alto peso molecolare sono invece eccellenti prebiotici e vengono fermentati dal microbiota (Ka-Lung, L, Cheung PCK, 2013; Jayachandran, M *et al.*, 2016; Ghosh, K., 2016; Holmes, D., 2015; Singdevsachan, SK, *et al.*, 2016).

Numerosi studi stanno attualmente cercando di correlare lo sviluppo di specifiche comunità microbiche stimolate dalla fermentazione dei β -glucani insolubili, per comprenderne gli effetti su microbiota e microbioma.

H. erinaceus è stato usato per millenni in Medicina Tradizionale Cinese per trattare le patologie gastrointestinali.

A oggi, non sembrano essere stati pubblicati studi sull'effetto di *H. erinaceus* sul rilascio di calprotectina a livello intestinale. Esiste un lavoro scientifico che correla l'uso di un particolare fermentato chiamato *AndoSan*, principalmente costituito da *Agaricus blazei* Murrill e piccole concentrazioni di *H. erinaceus* e *Grifola frondosa* sulla modulazione dell'espressione di citochine proinfiammatorie e calprotectina in pazienti con UC e CD. In questo studio la FC è diminuita nella UC, ma non nel CD. (Førland, D. T., *et al.*, 2011)

Recentemente è stato pubblicato un lavoro sugli effetti di *H. erina-*

ceus sulla salute intestinale dei ratti. La supplementazione di *H. erinaceus* ha modificato in modo significativo la composizione e la variabilità del microbiota intestinale. Il potenziale di immunomodulazione del sistema immunitario e di modificazione del microbiota, forniscono un razionale per il suo utilizzo come trattamento complementare delle IBD e di altre patologie infiammatorie o infettive del tratto gastrointestinale. (Diling, Chen, *et al.*, 2017 a)

Oltre ai β -glucani, altre molecole contenute nel fungo possono contribuire al miglioramento del sistema immunitario e all'irrobustimento del microbiota. Recentemente una proteina (HEP3) da esso isolata ha evidenziato attività immunomodulatoria in macrofagi RAW 264.7 attivati da LPS, con riduzione della produzione di citochine pro-infiammatorie (TNF- α , IL-1 β , e IL-6) e di altri mediatori dell'infiammazione. Tra i meccanismi di HEP-3 vi è anche la capacità di regolare la composizione e il metabolismo del microbiota, di stimolare la proliferazione e la differenziazione dei linfociti T e delle APC nel topo. La sua azione di aumento della variabilità delle comunità microbiche è stata notata anche dopo l'uso eccessivo di antibiotici in topi con IBD. (Diling, Chen, *et al.*, 2017 b)

I β -glucani ramificati, insolubili a elevato peso molecolare di *H. erinaceus* influenzano quindi la composizione del microbiota e la produzione di SCEFA (*Short Chain Fatty Acids*) che contribuiscono alla salute e al metabolismo delle cellule della mucosa del colon (De Preter V, *et al.*, 2015).

Pazienti con IBD hanno una mucosa intestinale caratterizzata da alterata permeabilità, condizione chiamata *leaky gut syndrome* (sindrome dell'intestino bucato). Ciò determina un aumentato passaggio di proteine indigerite e altre sostanze allergizzanti nel sangue con conseguente aumento esagerato stimolo del sistema immunitario e

dell'infiammazione sistemica. (Jejeebhoy KN, 1961)

La modificazione della barriera intestinale e la conseguente infiammazione determina anche una maggiore infiltrazione di leucociti che rilasciano calprotectina. I neutrofili non forniscono indicazione del livello di infiammazione per la loro breve emivita una volta raccolte le feci per l'analisi (D'Incà R. *et al.*, 2007), per questo viene dosata la FC che diventa un marker surrogato dei neutrofili nel lume intestinale. (Roseth AG, *et al.*, 1999).

La Fc è infatti molto stabile tanto che può resistere fino a 7 giorni a temperatura ambiente e bastano 5 grammi di feci per ottenere un risultato affidabile, ripetibile e soprattutto ottenuto con metodi non invasivi. (Roseth AG, *et al.*, 1992). In questo studio osservazionale 3 mesi di supplementazione con 2 grammi al giorno di un integratore a base di *H. erinaceus* costituito da 80% di micelio e corpo fruttifero e 20% di estratto idroalcolico, ha ridotto in modo significativo la FC nei pazienti di tutti i gruppi in esame. Molto importante è anche la modificazione alimentare che purtroppo non è sempre seguita in modo scrupoloso.

Multipli meccanismi possono essere responsabili dell'azione di *H. erinaceus* nella riduzione della FC e nel miglioramento dell'infiammazione e della sintomatologia associata.

Innanzitutto gli effetti di immunomodulazione esercitati dai β -glucani sono efficaci sia a livello locale (sistema immunitario enterico) che sistemico (sistema immunitario innato) come dimostrato da numerose pubblicazioni scientifiche (Kim, SP, *et al.*, 2012; Sheu, SC, *et al.*, 2013).

Ciò contribuisce a un aumento della capacità di rigenerare la mucosa intestinale e a ridurre l'infiltrazione leucocitaria della mucosa, che può essere correlato alla riduzione del rilascio di FC.

Inoltre, le erinacine contenute nel

Maschio/ Femmina	Età	Diagnosi	FC T0	FC T3	%miglioramento
M	53	CD	425	62	85,4
F	55	CD	602	47	92,2
F	48	CD	198	56	71,7
M	59	CD	334	72	78,4
F	43	CD	552	87	84,2
F	35	CD	147	45	69,4
F	68	CD	189	68	64
F	36	CD	512	54	89,4
F	57	CD	660	92	86
F	36	CD	260	116	55,4
F	42	CD	460	56	87,8
F	57	CD	483	16	90,8
Riduzione media di FC					74,8%

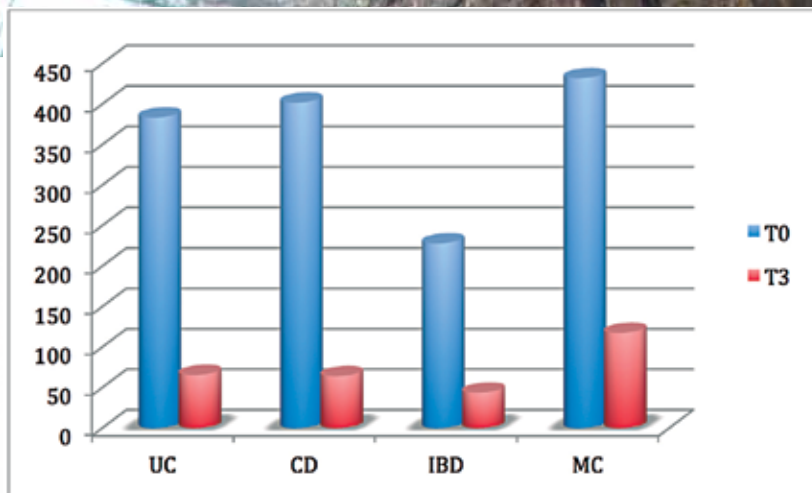
Tabella 3: gruppo CD – valori a T0 e T3 e percentuale di miglioramento della FC dopo 3 mesi di trattamento con *H. erinaceus*

Maschio/ Femmina	Età	Diagnosi	FC T0	FC T3	%miglioramento
M	22	IBD	489	45	90,7
F	42	IBD	72	39	45,8
F	51	IBD	270	52	80,7
F	47	IBD	240	35	85,4
M	37	IBD	321	47	85,3
M	49	IBD	234	39	83,3
M	57	IBD	189	26	86,2
F	45	IBD	156	52	66,7
F	54	IBD	218	45	79,3
M	46	IBD	109	47	56,9
F	43	IBD	210	55	73,8
Riduzione media di FC					75,8%

Tabella 4: gruppo IBD – valori a T0 e T3 e percentuale di miglioramento della FC dopo 3 mesi di trattamento con *H. erinaceus*

Maschio/ Femmina	Età	Diagnosi	FC T0	FC T3	%miglioramento
F	29	<i>Candida albicans</i>	242	65	73,1
F	39	<i>Dientamoeba fragilis</i>	1200	396	67
F	7	Parasitosis (unspecified)	431	131	69,6
M	63	Colon cancer	176	106	39,8
M	56	Peritoneal mesothelioma	1104	187	83,1
M	41	Colon melanosis	167	25	85
M	50	Colon cancer	127	38	70
M	51	<i>Giardia lamblia</i>	401	87	78,3
M	57	<i>Giardia lamblia</i>	327	85	74
F	38	<i>Giardia lamblia</i>	145	56	61,4
Riduzione media di FC					70,1%

Tabella 5: gruppo MC – valori a T0 e T3 e percentuale di miglioramento della FC dopo 3 mesi di trattamento con *H. erinaceus*



	T0 – FC media	T3 – FC media	% riduzione di FC
UC	383,4	65,74	74,50%
CD	401,83	64,25	74,80%
IBD	228	43,8	75,80%
MC	432	117,6	70,40%

Grafico 1: T0=inizio osservazione (azzurro) T3= dopo 3 mesi di integrazione di *H. erinaceus* (rosso); UC=rettocolite ulcerosa; CD=morbo di Crohn; IBD=Inflammatory Bowel Disease; MC=condizioni miste (carcinoma colo-rettale, mesotelioma peritoneale e parassitosi intestinale). Il diagramma mostra la variazione media per gruppo dei valori di FC da T0 (azzurro) a T3 (rosso).

micelio e gli ericenoni del corpo fruttifero esercitano un effetto di regolazione delle funzioni del sistema nervoso enterico riducendo la neuroinfiammazione. Ricordiamo che l'intestino è considerato un "secondo cervello" per la quantità di cellule nervose in esso contenute, che contribuiscono alla sua funzionalità, alla peristalsi, alla digestione, ma possono interferire con umore e concentrazione. Anche queste molecole possono quindi contribuire all'effetto di miglioramento globale che si nota nei pazienti trattati che riportano un aumento della concentrazione, una riduzione dell'ansia e un miglioramento dell'umore.

I β -glucani ramificati, insolubili, indigeribili a elevato peso molecolare vengono fermentati dal microbiota, e ne migliorano la variabilità e la robustezza come dimostrato nei ratti con IBD (Diling, C, *et al.*, 2017).

Il ruolo del microbiota nel mantenimento della salute e la riduzione del rischio di malattie è riconosciuto da molti anni e sempre di più la letteratura scientifica fornisce la

prova che una alterata composizione del microbiota può aumentare il rischio di sviluppare una IBD. Con le attuali tecniche di biologia molecolare che permettono di valutare il microbioma si è visto come esso possa esercitare effetti inaspettati sull'immunità e sul controllo dell'infiammazione (Maslowski KM, *et al.*, 2009), e che i geni coinvolti nello sviluppo delle IBD sono anche coinvolti nell'attivazione delle risposte immunitarie e nel riconoscimento batterico.

I β -glucani altamente ramificati, insolubili, indigeribili a elevato peso molecolare sono presenti nel fungo in toto (*H. erinaceus* micelio e corpo fruttifero) e non nell'estratto acquoso e/o idroalcolico che riesce a isolare solo i β -glucani solubili.

Il motivo per cui è stato usato un integratore che per l'80% contenesse *H. erinaceus* intero (micelio e corpo fruttifero) in combinazione con estratto idroalcolico è proprio per l'azione importante di questi β -glucani insolubili sul microbiota. *H. erinaceus* ha infatti una dimostrata azione bifidogenica, ossia favorisce la crescita dei

Bifidobatteri.

I *Bifidobatteri* sono microrganismi commensali del tratto gastrointestinale che sono parte importante del core microbiota e contribuiscono in modo importante alla salute dell'organismo (Arbolea, Silvia, *et al.*, 2016).

Studi hanno dimostrato che gli individui più sani e longevi della media hanno elevate quantità di *Bifidobatteri* che li accompagna nella vita. L'effetto prebiotico e bifidogenico dei β -glucani insolubili può agire in modo sinergico con una serie di altre molecole, i β -glucani solubili, le erinacine, gli ericenoni, i triterpeni, l'ergotioneina, i polifenoli e molte altre per controllare infiammazione e immunità con meccanismi articolati.

Inoltre, nella tradizione dei Nativi Americani, la polvere del fungo essiccato era utilizzata per velocizzare la cicatrizzazione delle ferite, bloccare il sanguinamento e proteggere dalle infezioni.

Questa proprietà cicatrizzante potrebbe contribuire alla guarigione delle ulcere che caratterizzano la UC e il CD in fase attiva.

Altri componenti, al di là dei β -glucani contenuti nell'*H. erinaceus* hanno effetto antimicrobico (Shang, X, *et al.* 2013; Shen, T *et al.*, 2015) e cicatrizzante (Abdulla, MA, *et al.* 2011), che può favorire la cicatrizzazione delle ulcere.

Tutti i partecipanti a questo studio dopo 3 mesi di integrazione con *H. erinaceus* hanno diminuito notevolmente i livelli di FC e migliorato la sintomatologia sia intestinale (diarrea, sangue nelle feci, dolore addominale), ma anche extra-intestinale (perdita di peso, stanchezza, alterazioni dell'umore e riduzione della concentrazione). L'effetto antinfiammatorio di *H. erinaceus* era confermato dalla significativa riduzione di calprotectina dopo 3 mesi di supplementazione.

Un ulteriore dato interessante è la ridotta necessità di farmaci antinfiammatori e antidolorifici descritta dai soggetti in esame.

Conclusioni

H. erinaceus è un fungo medicinale che si è guadagnato un nome grazie alla presenza di numerosi composti bioattivi con azione potenzialmente farmacologica contenuti al suo interno. Utilizzato per oltre 1000 anni in Cina e Giappone, i suoi effetti farmacologici sono ampiamente studiati negli ultimi 20 anni dalla medicina convenzionale.

I β -glucani solubili isolati da micelio e corpo fruttifero evidenziano un'azione di potenziamento immunitario, mentre quelli insolubili migliorano la composizione del microbiota e del microbioma. Studi relativamente recenti hanno permesso di isolare e identificare particolari composti a basso peso molecolare in grado di attraversare la barriera ematoencefalica e di indurre la sintesi di NGF a livello cerebrale stimolando la neurogenesi: gli ericenoni presenti nel corpo fruttifero e le erinacine nel micelio.

Nessun effetto collaterale è stato descritto fino a oggi né sull'animale, né sull'uomo.

La sua capacità di ridurre i livelli di FC nelle patologie cronico infiammatorie dell'intestino riportate in questo studio osservazionale potrebbe aprire una nuova area di ricerca per spiegare nei dettagli i meccanismi d'azione; potrebbe inoltre fornire un razionale per un suo utilizzo preventivo e complementare a sostegno di tali condizioni infiammatorie croniche per ridurre la sintomatologia, la gravità e per migliorare la qualità della vita delle persone affette.

* **B.Sc., Genetics, Molecular biologist**

Bibliografia

- Abdulla MA, et al. (2008) Effect of culinary medicinal lion's mane mushroom, *Herici-um erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllophoromycetideae) on ethanol induced gastric ulcers in rats. *Int J Med Mushrooms* 10:325-330
- Abdulla, MA, et al. "Potential activity of aqueous extract of culinary-medicinal Lion's Mane mushroom, *Herici-um erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers.(Aphyllophoromycetideae) in accelerating wound healing in rats." *International journal of medicinal mushrooms* 13.1 (2011).
- Arboleya, Silvia, et al. "Gut bifidobacteria populations in human health and aging." *Frontiers in microbiology* 7 (2016): 1204.
- Baars JE, et al. Majority of patients with inflammatory bowel disease in clinical remission have mucosal inflammation. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18:1634-1640.
- Besirtsoğlu E, Stavropoulou E. Immunology and probiotic impact of the newborn and young children intestinal microflora. *Anaerobe.* 2011;17:369-374
- Cobb WS, et al. Colonoscopic perforations: incidence, management, and outcomes. *Am Surg* 2004;70:750-7.discussion 57-8.
- Crama-Bohouth G, et al. Are activity indices helpful in assessing active intestinal inflammation in Crohn's disease? *Gut.* 1989;30:1236-1240.
- De Preter V, et al. Faecal metabolite profiling identifies medium-chain fatty acids as discriminating compounds in IBD. *Gut.* 2015; 64:447-58.
- Diling, Chen, et al. "Extracts from *Herici-um erinaceus* relieve inflammatory bowel disease by regulating immunity and gut microbiota." *Oncotarget* 8.49 (2017 a): 85838.
- Diling, Chen, et al. "immunomodulatory activities of a Fungal Protein extracted from *Herici-um erinaceus* through regulating the gut Microbiota." *Frontiers in immunology* 8 (2017 b): 666.
- D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, et al. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis.* 2007;22:429-437.
- Fagerhol MK, et al. Calprotectin (the L1 leukocyte protein) In: Smith VL, Dedman JR, eds , editors. Stimulus response coupling: the role of intra-cellular calcium binding proteins. Houston: Boca Raton Fla: CRC Press Inc.; 1990. pp. 187-210.
- Foell D, et al. Monitoring disease activity by stool analyses: from occult blood to molecular markers of intestinal inflammation and damage. *Gut.* 2009;58:859-868.
- Førland, D. T., et al. "Effect of an extract based on the medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murill on expression of cytokines and calprotectin in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease." *Scandinavian Journal of Immunology* 73.1 (2011): 66-75.
- Furrie, Elisabeth, et al. "Synbiotic therapy (*Bifidobacterium longum*/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial." *Gut* 54.2 (2005): 242-249.
- Gerbec B., et al. Solid State Cultivation of *Herici-um erinaceus* Biomass and Erinacine: A Production. (2015) *J Bioprocess Biotech*, 5:3
- Ghosh, K. "A Review: Edible Mushrooms as Source of Dietary Fiber and its Health Effects." *Journal of Physical Sciences*, Vol. 21, 2016, 129-137
- Gisbert, J. P., and A. G. McNicholl. "Questions and answers on the role of faecal calprotectin as a biological marker in inflammatory bowel disease." *Digestive and Liver Disease* 41.1 (2009): 56-66.
- Gomes P, et al. Relationship between disease activity indices and colonoscopic findings in patients with colonic inflammatory bowel disease. *Gut.* 1986;27:92-95.
- Han ZH, et al. (2013) Evaluation of in vivo antioxidant activity of *Herici-um erinaceus* polysaccharides. *Int J Biol Macromol*; 52: 66-71.
- Holmes, D. "Medicinal mushroom reduces obesity by modulating microbiota." *Nature Reviews Endocrinology* 11.9 (2015): 504-505.
- Jayachandran, M et al.. "A Critical Review on Health Promoting Benefits of Edible Mushrooms through Gut Microbiota." *International journal of molecular sciences* 18.9 (2017): 1934.
- Jeejeebhoy KN, Coghill NF. The measurement of gastrointestinal protein loss by a new method. *Gut.* 1961;2:123-130
- Jin-Feng Lin, et al. 2014. Meta-analysis: Fecal Calprotectin for Assessment of Inflammatory Bowel Disease Activity. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:1407-1415
- Ka-Lung, L, Cheung PCK. "Non-digestible long chain beta-glucans as novel prebiotics." *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 2.1 (2013): 45-64.
- Kim, SP, et al. "Herici-um erinaceus mushroom extracts protect infected mice against *Salmonella* Typhimurium-induced liver damage and mortality by stimulation of innate immune cells." *Journal of agricultural and food chemistry* 60.22 (2012): 5590-5596.
- Kirk PM, et al. (2008) *Dictionary of the fungi*. 10th ed., p. 313 .
- Kleerebesem M, Vaughan EE. Probiotic and gut lactobacilli and bifidobacteria: molecular approaches to study diversity and activity. *Annu Rev Microbiol.* 2009;63:269-290
- Li G., et al. (2014) Anticancer potential of *Herici-um erinaceus* extracts against human gastrointestinal cancers. *J. Ethnopharmacol.* 153(2):521-30
- Masłowski KM, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Na-*

ture. 2009;461:1282–1286
Moldovan MG, et al. (2007) Neurotropic and trophic action of lion's mane mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllophoromycetidae) extracts on nerve cells in vitro. *Int J Med Mushrooms* 9:15–28

Ponder A, et al. clinical review of recent findings in the epidemiology of inflammatory bowel disease. *Clin Epidemiol.* 2013;5:237–247.

Qin M., et al (2016) Anti-Inflammatory Effects of Ethanol Extract of Lion's Mane Medicinal Mushroom, *Hericium erinaceus* (Agaricomycetes), in Mice with Ulcerative Colitis. *Int J Med Mushrooms* 18(3):227-234

Roseth AG, et al. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol.* 1992;27:793–798.

Roseth AG, et al. Correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:50-4.

Schoepfer AM, et al. Discriminating IBD from IBS: comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. *Inflamm Bowel Dis.* 2008;14:32–39.

Shang X, et al. (2013) In Vitro Anti-Helicobacter pylori Effects of Medicinal Mushroom Extracts, with Special Emphasis on the Lion's Mane Mushroom, *Hericium erinaceus* (Higher Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 15 (2): 165-174

Shang, X, et al. "In vitro anti-Helicobacter pylori effects of medicinal mushroom extracts, with special emphasis on the Lion's Mane mushroom, *Hericium erinaceus* (higher Basidiomycetes). *International journal of medicinal mushrooms* 15.2 (2013).

Shen, T et al. "Production of cyathane type secondary metabolites by submerged cul-

tures of *Hericium erinaceus* and evaluation of their antibacterial activity by direct bioautography." *Fungal biology and biotechnology* 2.1 (2015): 8.

Sheu, SC, et al. "Immunomodulatory effects of polysaccharides isolated from *Hericium erinaceus* on dendritic cells." *Process biochemistry* 48.9 (2013): 1402-1408.

Singdevsachan, SK, et al. "Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomod-

ulation of ulcerative colitis: definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis.* 2008;2:1–23.

Travis SP, et al. Reliability and initial validation of the ulcerative colitis endoscopic index of severity. *Gastroenterology* 2013;145:987–95.

Turroni F, Ventura M, Buttó LF, Duranti S, O'Toole PW, Motherway MO, van Sinderen D. Molecular dialogue between the human gut microbiota and the host: a *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* perspective. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71:183–203

Van Assche G, et al. The second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis.* 2010;4:7–27.

Van Rheenen, et al. "Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis." *Bmj* 341 (2010): c3369.

Vermeire S, et al. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut.* 2006;55:426–431.

Viennois et al. "Biomarkers of Inflammatory Bowel Disease: From Classical Laboratory Tools to Personalized Medicine." *Inflamm Bowel Dis.* Vol 21, No 10, Oct 2015.

Voganatsi A, et al. Mechanism of extracellular release of human neutrophil calprotectin complex. *J Leukoc Biol.* 2001;70:130–134.

Walsham NE., et al. "Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease." *Clinical and experimental gastroenterology* 9 (2016): 21.

Wang M., et al. (2015) Anti-Gastric Ulcer Activity of Polysaccharide Fraction Isolated from Mycelium Culture of Lion's Mane Medicinal Mushroom, *Hericium erinaceus* (Higher Basidiomycetes). *Int J Med Mushrooms* 17(11):1055-60.

Xavier RJ, et al. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature.* 2007;448:427–434.



ulating properties: A review." *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 7.1 (2016): 1-14.

Sipponen T, et al. Endoscopic evaluation of Crohn's disease activity: comparison of the cdeis and the ses-cd. *In amm Bowel Dis* 2010;16:2131–6.

Stange EF, et al. European evidence-based Consensus on the diagnosis and man-