

OLI ESSENZIALI NEL TRATTAMENTO DELLE INFEZIONI FUNGINE MUCOCUTANEE IN ONCOLOGIA

Francesca Mondello, Antonietta Girolamo, Maura Di Vito

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le terapie anticancro possono favorire gravi infezioni microbiche a causa della tossicità e degli effetti immunodepressivi indotti dalle radiazioni o dai chemioterapici che vengono utilizzati per controllare la diffusione delle cellule neoplastiche (1, 2). Le infezioni fungine, causate principalmente da alcune specie opportunistiche del lievito *Candida*, sono molto comuni nei pazienti oncologici in tutte le fasi della malattia (3, 4). Queste infezioni sono in genere limitate ai siti mucocutanei, ma possono diffondere anche agli organi interni, se non controllate adeguatamente, portando ad infezioni invasive con alta mortalità nei soggetti debilitati. Infatti, l'uso improprio e l'abuso di farmaci antifungini può causare la comparsa di lieviti resistenti, in particolare la selezione di ceppi azolo-resistenti di *Candida albicans*, il principale agente di infezione fungina mucocutanea (5); la capacità, in particolare di quest'ultimo germe, di crescere sotto forma di denso biofilm ifale (6, 7) su mucose e protesi riduce ulteriormente l'efficacia della maggior parte degli agenti antifungini (8); infine la mancanza di cooperazione da parte del sistema immunitario, provoca una parziale efficacia terapeutica o la comparsa di resistenza ai farmaci impiegati.

È urgente quindi la necessità di identificare nuovi metodi di prevenzione e trattamenti integrativi e/o alternativi soprattutto per contrastare gli effetti tossici delle terapie antimicrobiche convenzionali, il galoppante fenomeno dell'antibiotico-resistenza e la stessa scarsità di nuovi antibiotici.

Nell'ultimo ventennio vi è stato un interesse crescente da parte degli enti scientifici per l'uso delle sostanze naturali nell'ambito delle malattie infettive, con l'obiettivo di sviluppare nuove classi di antimicrobici sicuri ed efficaci da poter usare in alternativa o a integrazione con le terapie convenzionali, per prevenire e/o migliorare il trattamento di alcune patologie infettive, specialmente farmacoresistenti in pazienti immunocompromessi. Tra le sostanze naturali la letteratura scientifica ha da tempo riportato ed evidenziato i vantaggi, in termini di ampio spettro di attività biologiche, di biodegradabilità e di esigua tossicità, degli oli essenziali, complesse misture di sostanze vegetali volatili estratte da piante medicinali aromatiche.

Il presente contributo ha lo scopo di evidenziare, secondo quanto riscontrato in letteratura, il potenziale preventivo e/o terapeutico degli oli essenziali e dei loro costituenti che vengono usati, spesso anche aneddoticamente, per il trattamento di infezioni fungine mucocutanee in oncologia.

Un grande numero di oli essenziali e di loro costituenti sono stati ben caratterizzati *in vitro* per la loro attività nei confronti di lieviti, di dermatofiti e di altri funghi filamentosi. Tuttavia i dati microbiologico-clinici promettenti sono spesso insufficienti, aneddotici e non basati sull'uso di metodologie validate e di modelli sperimentali con buona predittività per l'uso clinico. Inoltre spesso gli oli essenziali utilizzati nella ricerca non rispondono ai requisiti di buona qualità, in quanto si tratta di misture poco definite di vari composti.

Ci si focalizzerà quindi sulle proprietà preventive e/o terapeutiche dell'olio di *Melaleuca alternifolia* (*Tea Tree Oil*, TTO), miscela che merita particolare considerazione, sia perché la sua composizione è regolata dalla norma internazionale standard ISO 4730 per TTO (9) e dalla farmacopea europea (Tabella 1) (10), sia perché per tali requisiti è stato oggetto di molti studi

rigorosamente scientifici (11, 12), e infine perché si è dimostrato recentemente il minimo impatto sullo sviluppo di resistenza microbica (13).

Tabella 1. Principali componenti di *Melaleuca alternifolia*, chemotipo terpinene-4-olo, secondo Farmacopea Europea e ISO 4730:2004

Costituenti	Farmacopea Europea		ISO 4730:2004	
	minimo %	massimo %	minimo %	massimo %
Alfa-pinene	1,0	6,0	1	6
Sabinene	-	3,5	Tracce	3,5
Alfa-terpinene	5,0	13,0	5	13
Limonene	0,5	4,0	0,5	1,5
1,8-cineolo	-	15,0	Tracce	15
Gamma-terpinene	10,0	28,0	10	28
p-Cimene	0,5	12,0	0,5	8
Terpinolene	1,5	5,0	1,5	5
Terpinene-4-olo	30,0	-	30	48
Aromadendrene	-	7,0	Tracce	3
Alfa-terpineolo	1,5	8,0	1,5	8
Delta-cadinene	-	-	Tracce	3
Globulolo	-	-	Tracce	1
Viridoflorolo	-	-	Tracce	1
Viridoflorene	-	-	Tracce	3

Il TTO è una complessa miscela ottenuta tramite distillazione a vapore delle foglie della pianta australiana *Melaleuca alternifolia*, con circa 100 componenti (idrocarburi terpenici, principalmente monoterpeni, sesquiterpeni, con i loro alcoli associati). Sono 7 i componenti che costituiscono l'80-90% del TTO e i componenti, terpinene-4-olo (40% della miscela) (T-4-olo) insieme all' α -terpineolo (circa 3% della miscela) risultano i maggiori responsabili dell'attività antimicrobica.

Studi hanno dimostrato l'attività antinfiammatoria (14), e l'attività antimicrobica contro un ampio spettro di microrganismi, tra cui germi comunemente isolati, a livello orale, da pazienti oncologici, come lo *Staphylococcus aureus* (MRSA, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, incluso) (15, 16), germi coliformi (17), e il virus *Herpes simplex* (18), le cui gravi e continue riattivazioni, costituiscono un ulteriore importante problema clinico per i malati terminali.

Il TTO presenta anche una potente attività contro molti funghi, tra cui alcuni lieviti azolo-resistenti (19, 20), con evidenza di efficacia nel trattamento della candidosi orale refrattaria al fluconazolo in pazienti affetti da AIDS (22, 23). Gli studi preclinici di Mondello F. (19, 23, 24) hanno dato un sostanziale supporto a precedenti evidenze empiriche e scientifiche sull'efficacia del trattamento della candidosi vaginale con TTO, soprattutto quando l'infezione è causata da specie di *C. albicans* farmaco-resistenti. È stata dimostrata, per la prima volta *in vivo*, l'elevata attività antifungina del TTO al 5% v/v e del principale componente della miscela, T-4-olo all'1% v/v, in un modello di infezione sperimentale di *C. albicans* nella ratte, modello molto stringente e predittivo della terapia della vaginite da *Candida* nelle donne, anche con l'uso di ceppi resistenti agli azolici o alla caspofungina. Tuttavia per determinare l'indice terapeutico di TTO e di T-4-olo contro la candidosi vulvovaginale ricorrente, verso la quale attualmente nessuna cura eradicante è disponibile, sono indispensabili ulteriori studi clinici randomizzati controllati.

L'efficacia terapeutica di TTO e di T-4-olo sono stati dimostrati anche in un modello murino di candidosi orale con una diminuzione dei sintomi e del numero di cellule vitali di *Candida* nella cavità orale solo dopo due ore dal trattamento antifungino, anche nei confronti di ceppi di *C. albicans* resistenti (25).

Negli studi riportati da Ramage G. (26) viene valutata l'efficacia anti-biofilm e anti-infiammatoria del TTO e dei suoi componenti nei confronti di *C. albicans* e gli eventuali effetti citotossici. In particolare hanno dimostrato che: TTO e T-4-olo hanno la capacità potenziale di sopprimere mediatori infiammatori, che sono comuni nelle mucose dei malati oncologici; TTO, T-4-olo e α -terpineolo esercitano una potente attività microbica, in funzione del tempo di esposizione, nei confronti di biofilm di *C. albicans* e soprattutto i componenti risultano significativamente più attivi del TTO anche a livello dell'alterazione delle membrane cellulari. Inoltre TTO e T-4-olo risultano biologicamente attivi contro cellule di mammiferi, essendo tossici sia per fibroblasti che per cellule epiteliali alla dose di una MIC₅₀ (*Minimum Inhibitory Concentration*: la concentrazione più bassa di antibiotico capace di inibire il 50% dei ceppi microbici testati), riducendo la vitalità anche dopo una breve esposizione (2 min). Dimezzando la MIC₅₀, T-4-olo non presenta alcuna tossicità contro fibroblasti (98% vitalità) rispetto al TTO (63% vitalità). A questa stessa dose T-4-olo e TTO non sono però tossici per le cellule epiteliali (100% vitali). In generale per quanto riguarda gli studi di citotossicità i dati non sono facilmente comparabili in quanto gli studi presenti in letteratura sono rivolti a linee cellulari di vario tipo, con dosi di oli essenziali e tempi di esposizione differenti.

Uno studio recente (27) ha mostrato che l'attività anti-infiammatoria del T-4-olo può rappresentare un ruolo chiave ai fini dell'efficacia terapeutica contro la candidosi orale. Anche se sono necessari ulteriori studi, T-4-olo potrebbe essere utilizzato non solo nella terapia della candidosi orale, ma anche nei confronti di varie malattie di natura infiammatoria.

Gli studi clinici di Jandourek A. (21) e di Vasquez J.A. (22) hanno esaminato l'efficacia di due formulazioni di collutorio contenenti TTO in pazienti HIV-positivi con candidosi orofaringea refrattaria al fluconazolo, mettendo in evidenza riduzioni significative sia delle cellule lievito infettanti, sia delle lesioni orali. Questo è stato osservato sia con la formulazione in fase acquosa, sia con quella contenente alcol, anche se a quest'ultima tuttavia è stata associata una moderata sensazione di bruciore nella cavità orale. Entrambi i colluttori sono clinicamente efficaci in pazienti affetti da HIV con candidosi orale, ma ulteriori studi clinici sono necessari.

Ormai molti prodotti a base di TTO per l'igiene delle mucose sono disponibili in commercio. In generale, i prodotti antisettici con TTO hanno mostrato un'attività antimicrobica equivalente o maggiore a quella del controllo a base di TTO non formulato (28). La maggiore attività dei prodotti può essere attribuita ad altri eccipienti antimicrobici presenti come conservanti, o alle interazioni antimicrobiche sinergiche tra il TTO e altri eccipienti presenti nel prodotto.

I dati attuali in vitro suggeriscono che questi prodotti a base di TTO, attualmente disponibili in commercio, possono anche essere attivi in vivo e portano alla considerazione di un eventuale utilizzo per la prevenzione e il trattamento di infezioni fungine mucocutanee. Tuttavia, sono state riportati alcuni fattori negativi in alcune formulazioni orali quali le reazioni di ipersensibilità e il sapore sgradevole dell'olio essenziale e inoltre devono essere esaminati con attenzione anche la *compliance* del paziente e la potenziale tossicità del TTO. Tutto ciò può essere valutato opportunamente solo attraverso ulteriori studi e sperimentazioni cliniche. Nel complesso, i risultati della letteratura scientifica suggeriscono che TTO e T-4-olo potrebbero potenzialmente prevenire o risolvere le infezioni fungine mucocutanee nei pazienti oncologici grazie alla loro efficacia antimicrobica, antinfiammatoria, alle potenziali sinergie con antifungini convenzionali, e alla bassa tossicità riportata, insieme ai dati promettenti provenienti da studi pre-clinici. Inoltre l'uso del T-4-olo, come componente purificato attivo del TTO, potrebbe evitare costosi controlli di qualità impiegati generalmente nella utilizzazione di miscele

e potrebbe essere più appropriato per lo sviluppo di prodotti per uso topico. Tuttavia ulteriori studi clinici randomizzati controllati sono necessari per determinare l'efficacia e i rischi di questi prodotti di origine vegetale nel trattamento delle infezioni fungine mucocutanee nei pazienti oncologici.

Bibliografia

1. Wingard JR. Oral complications of cancer therapies. Infectious and non-infectious systemic consequences. *NCI Monogr* 1990;9:21-6.
2. Sonis ST, Fey EG. Oral complications of cancer therapy. *Oncology (Williston Park)* 2002;16:680-6; Discussion 686, 691-2, 695.
3. Redding SW, Dahiya MC, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Patterson TF, Fothergill AW, Rinaldi MG, Thomas CR Jr. *Candida glabrata* is an emerging cause of oropharyngeal candidiasis in patients receiving radiation for head and neck cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97:47-52.
4. Davies AN, Brailsford SR, Beighton D. Oral candidosis in patients with advanced cancer. *Oral Oncol* 2006; 42: 698-702.
5. Bagg J, Sweeney MP, Lewis MA, Jackson MS, Coleman D, Al MA, Baxter W, McEndrick S, McHugh S. High prevalence of non-albicans yeasts and detection of anti-fungal resistance in the oral flora of patients with advanced cancer. *Palliat Med* 2003;17:477-81.
6. Ganguly S, Mitchell AP. Mucosal biofilms of *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol* 2011;14:380-5.
7. Ramage G, López-Ribot JL. Fungal biofilms and drug resistance. In: San Blas G, Calderone RA (Ed.). *Pathogenic fungi: host interactions and emerging strategies for control*. Norwich: Horizon Scientific Press; 2004. Chapter 11.
8. d'Enfert C. Biofilms and their role in the resistance of pathogenic *Candida* to antifungal agents. *Curr Drug Targets* 2006;7:465-70.
9. ISO 4730:2004. *Oil of Melaleuca, Terpinen-4-ol type (Tea Tree Oil)*. Geneva: International Organization for Standardization; 2004.
10. European Medicines Agency. *Assessment Report on Melaleuca alternifolia (Maiden and Betch) Cheel, M. linariifolia Smith, M. dissitiflora F. Mueller and/or other species of Melaleuca, aetheroleum*. London: EMA; 2013. (EMA/HMPC/320930/2012).
11. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:50-62.
12. Hammer KA, Carson CF, Riley TV, Nielsen JB. A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Food Chem Toxicol* 2006;44:616-25.
13. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil and the major monoterpene component terpinen-4-ol on the development of single- and multistep antibiotic resistance and antimicrobial susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:909-15.
14. Brand C, Grimbaldston MA, Gamble JR, Drew J, Finlay-Jones JJ, Hart PH. Tea tree oil reduces the swelling associated with the efferent phase of a contact hypersensitivity response. *Inflamm Res* 2002;51:236-44.
15. Dryden MS, Dailly S, Crouch M. A randomized, controlled trial of tea tree topical preparations versus a standard topical regimen for the clearance of MRSA colonization. *J Hosp Infect* 2004;56:283-6.

16. Kwiecinski J, Eick S, Wojcik K. Effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil on *Staphylococcus aureus* in biofilms and stationary growth phase. *Int J Antimicrob Agents* 2009;33:343-7.
17. Jobbins J, Bagg J, Parsons K, Finlay I, Addy M, R.G. Newcombe. Oral carriage of yeasts, coliforms and staphylococci in patients with advanced malignant disease *J Oral Pathol Med* 1992;21(7):305-8.
18. Carson CF, Ashton L, Dry L, Smith DW, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil gel (6%) for the treatment of recurrent herpes labialis. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:450-1.
19. Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Salvatore G, Cassone A. *In vitro* and *in vivo* activity of tea tree oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic yeasts. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:1223-9.
20. Bagg J, Jackson MS, Petrina Sweeney M, Ramage G, Davies AN. Susceptibility to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil of yeasts isolated from the mouths of patients with advanced cancer. *Oral Oncol* 2006;42:487-92.
21. Jandourek A, Vaishampayan JK, Vazquez JA. Efficacy of melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole refractory oral candidiasis in AIDS patients. *AIDS* 1998;9:1033-7.
22. Vazquez JA, Zawawi AA. Efficacy of alcohol-based and alcohol-free melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole-refractory oropharyngeal candidiasis in patients with AIDS. *HIV Clin Trials* 2002;3:379-85.
23. Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Cassone A, Salvatore G. *In vivo* activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic *Candida* species. *BMC Infect Dis* 2006;6:158.
24. Mondello F, Girolamo A, De Bernardis F, Cassone A. Componenti di oli essenziali e vaginite ricorrente da *Candida albicans*: un promettente e innovativo approccio terapeutico. In: Facchinetti F, Unfer V (Ed.). *Fitoterapia e integratori in ostetricia e ginecologia*. Roma: CIC Edizioni Internazionali; 2009. p. 78-84.
25. Ninomiya K, Maruyama N, Inoue S, Ishibashi H, Takizawa T, Oshima H, Abe S. The essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) and its main component, terpinen-4-ol protect mice from experimental oral candidiasis. *Biol Pharm Bull* 2012;35(6):861-5.
26. Ramage G, Milligan S, Lappin DF, Sherry L, Sweeney P, Williams C, Bagg J, Culshaw S. Antifungal, cytotoxic, and immunomodulatory properties of tea tree oil and its derivative components: potential role in management of oral candidosis in cancer patients. *Front Microbiol* 2012;3:220.
27. Ninomiya K, Hayama K, Ishijima Sa, Maruyama N, Irie H, Kurihara J, Abe S. Suppression of inflammatory reactions by terpinen-4-ol, a main constituent of tea tree oil, in a murine model of oral candidiasis and its suppressive activity to cytokine production of macrophages *in vitro*. *Biol Pharm Bull* 2013; 36(5):838-44.
28. Thomsen PS, Jensen TM, Hammer KA, Carson CF, Mølgaard P, Riley TV. Survey of the antimicrobial activity of commercially available Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil products *in vitro*. *J Altern Complement Med* 2011;17:835-41.