

**OLFATTO**

L'olfatto è uno dei cinque sensi specifici e rende possibile, tramite i chemiocettori, la percezione della concentrazione, della qualità e dell'identità di molecole volatili e di gas presenti nell'aria.

Tali molecole sono chiamate **ODORANTI**.

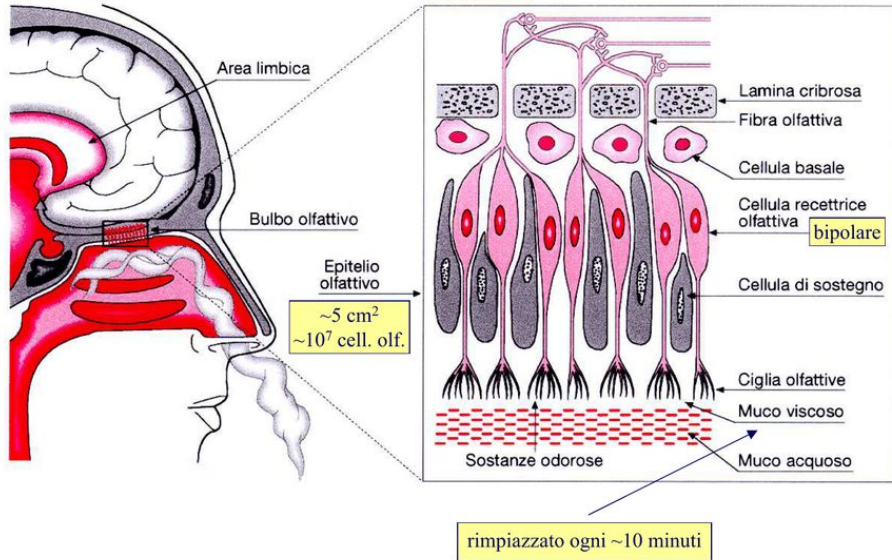
L'olfatto è connesso in maniera funzionale con il gusto, come si può dimostrare quando un raffreddore congestiona le vie aeree, compromettendo la funzione olfattiva e facendo in modo che i cibi abbiano pressoché tutti lo stesso sapore.

E' inoltre connesso con il sistema **chemiosensoriale generale** o trigeminale.

I sensi dell'olfatto, del gusto e chemiosensoriale generale formano il sistema chemiosensorio.

In questa sede ci occuperemo dell'olfatto

## LOCALIZZAZIONE E STRUTTURA DELL'EPITELIO OLFATTIVO



Il processo che porta alla percezione olfattiva inizia nella cavità nasale, dove le molecole odorose raggiungendo l'**epitelio olfattivo** si legano a un gran numero di recettori olfattivi nelle ciglia di cellule olfattive (**neuroni sensoriali olfattivi**).

Una cellula olfattiva è un neurone bipolare dal corpo allungato con la superficie apicale (diretta verso la cavità nasale) costituito da un lungo dendrite che si conclude con un nodo olfattivo dal quale si dipartono numerose ciglia immerse nel muco nasale che funge da mezzo di cattura e diffusione degli odoranti.

Ciascun neurone olfattivo è separato da quello adiacente da cellule di supporto.

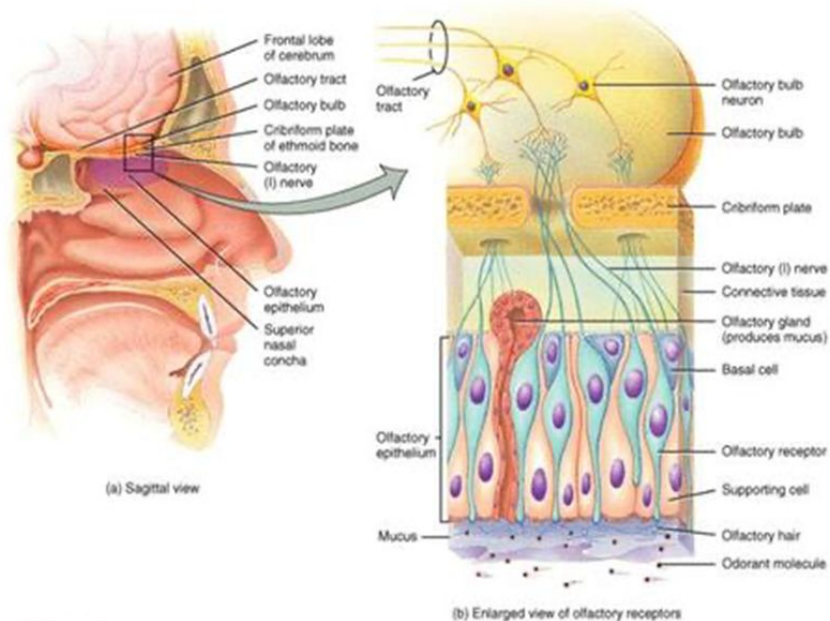
Il muco è secreto dalle ghiandole di Bowman, ma un certo contributo sembra venire dalle ghiandole di supporto.

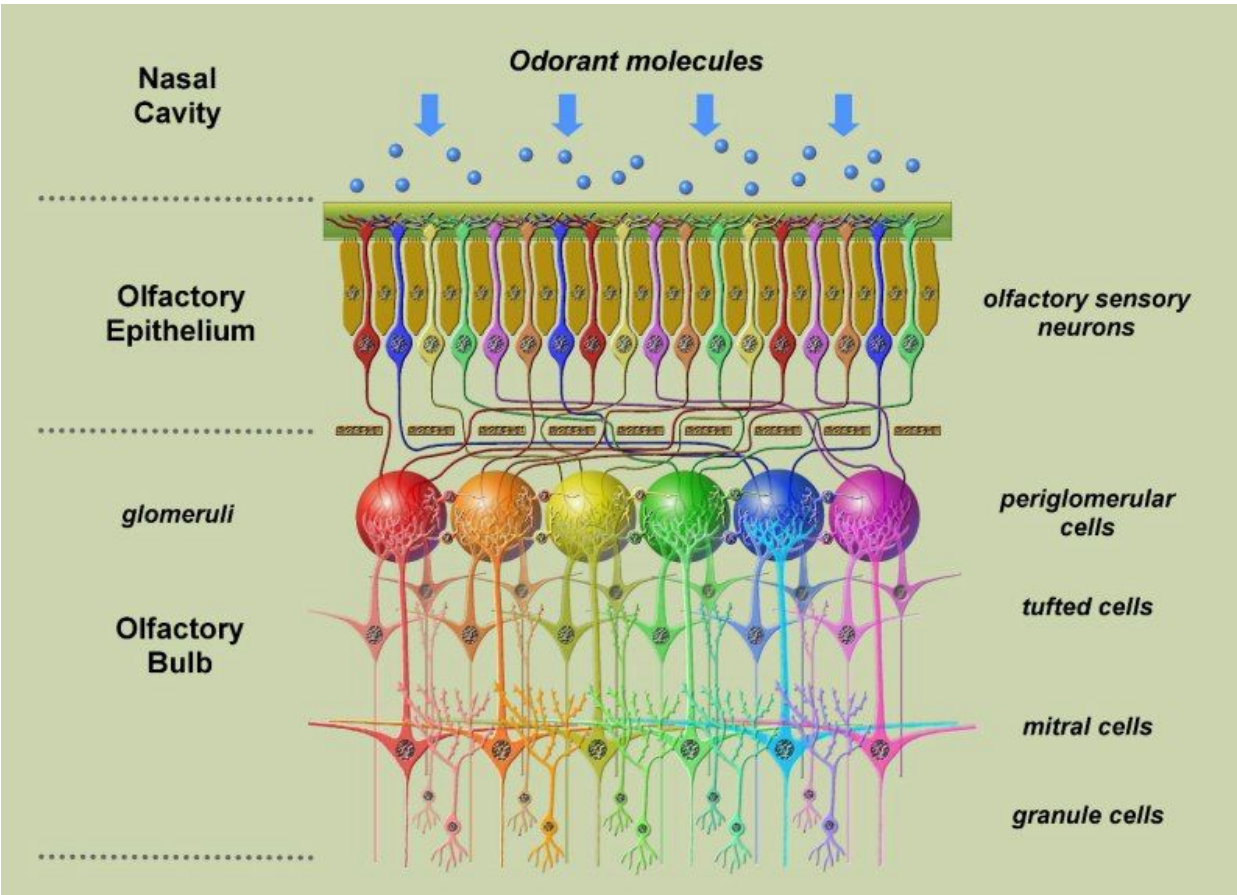
Sull'altra superficie apicale il neurone olfattivo possiede un assone di piccolo diametro non mielinizzato e circondato dalle cellule di sostegno che si inframmezzano tra un neurone olfattivo e l'altro.

Attaccate alla lamina basale che separa l'epitelio olfattivo dal tessuto connettivo posto più in profondità vi sono cellule staminali in grado di dividersi generando un'altra staminale indifferenziata e cellule che si differenziano in neuroni olfattivi in caso di lesioni a carico di questi. **E' l'unico esempio di cellule staminali in grado di differenziarsi autonomamente in una tipologia di neuroni.**

Ciascun neurone sensoriale olfattivo esprime soltanto un tipo di recettore olfattivo che però può legare differenti odoranti.

Vice versa ciascun odorante può legarsi a parecchi recettori olfattivi in accordo a un unico codice combinatorio.





Gli assoni dei neuroni sensoriali olfattivi inviano informazioni a neuroni di secondo ordine (cellule mitrali e a pennacchio) collocate nel **bulbo olfattivo**, che a sua volta proietta a molte aree corticali.

Tutti i neuroni sensoriali olfattivi che esprimono un recettore olfattivo proiettano a specifiche unità sinaptiche, chiamate glomeruli, nel bulbo olfattivo.

Perciò un singolo glomerulo rappresenta un singolo recettore olfattivo, e ciascuna molecola odorosa produce l'attivazione di una combinazione unica di glomeruli spazialmente invariati nel bulbo olfattivo.

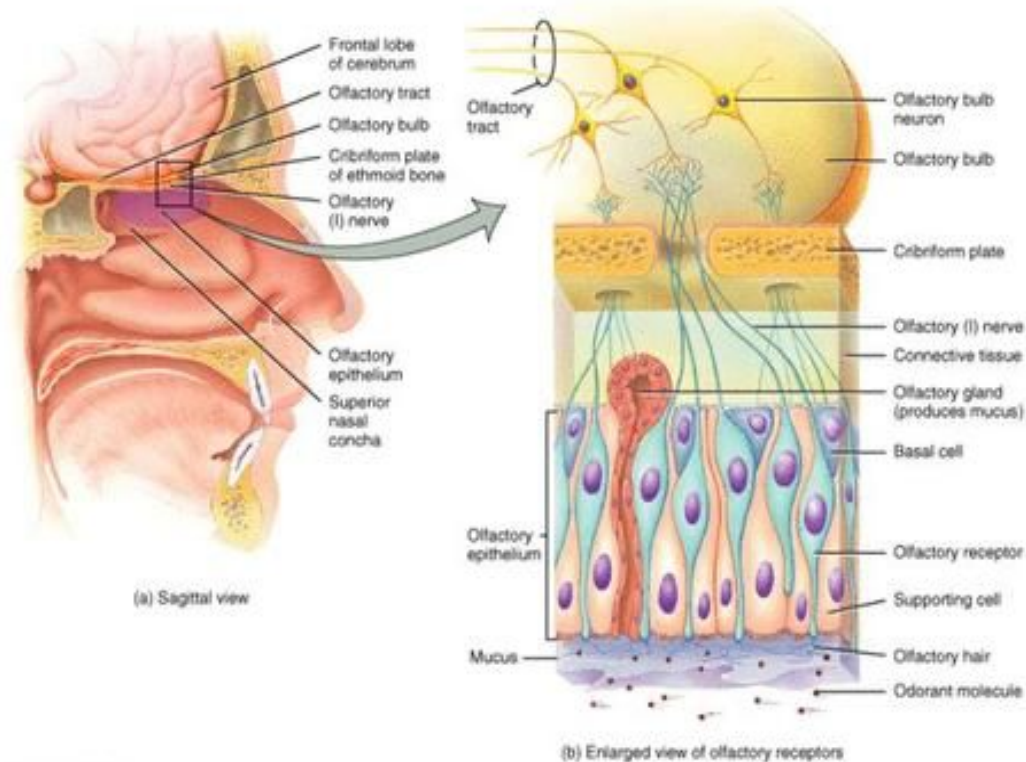
Dal bulbo olfattivo le cellule mitrali e a pennacchio trasmettono il segnale dai glomeruli ai neuroni corticali in molte aree anatomicamente distinte chiamate collettivamente **corteccia primaria olfattiva**, includente la corteccia piriforme e l'amigdala corticale.

Differentemente da altri sistemi sensoriali, il sistema olfattivo manda segnali direttamente alla corteccia senza prima connettersi al talamo.

I neuroni della corteccia primaria olfattiva proiettano direttamente alla corteccia orbitofrontale ed anche all'ippocampo, ipotalamo e nucleo mediodorsale del talamo.

Questa complessa organizzazione neuroanatomica è alla base della percezione olfattiva, un processo che **non dipende soltanto dagli specifici odoranti che si legano ai recettori, ma anche**

**da come il cervello filtra, organizza e interpreta l'informazione olfattiva in accordo con molti altri fattori, inclusi l'apprendimento, l'esperienza, l'attenzione, la memoria e l'emozione.**



Durante l'inspirazione attraverso le narici, le molecole odorose raggiungono l'epitelio olfattivo, collocato nella parte superiore della cavità nasale.

Tale cavità è occupata largamente dai turbinati che determinano la direzione del flusso d'aria e, durante la normale respirazione, solo il 5%-10% dell'aria inalata raggiunge l'epitelio olfattivo.

Tuttavia molti animali esplorano attivamente la presenza di molecole odorose nell'ambiente esterno annusando.

Una annusata consiste nel prendere aria nel naso in brevi respiri per aumentare la percentuale di aria che raggiunge l'epitelio olfattivo, senza trasportare l'aria più a fondo nel polmone.

Negli esseri umani una tipica annusata dura in media 1.6 s, con una velocità di inalazione di 27 L/min ed un volume di 500 cm<sup>3</sup>.

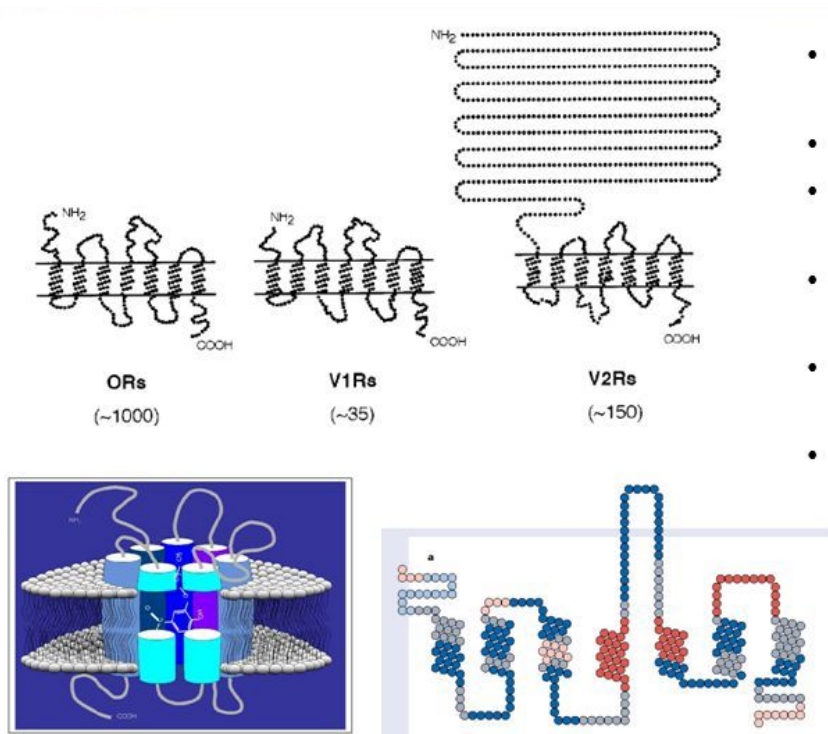
Gli odoranti raggiungono l'epitelio olfattivo non soltanto con l'aria che passa attraverso le narici (percorso ortonasale) ma anche attraverso la cosiddetta nasofaringe (percorso retronasale) durante la masticazione o quando si beve.

Il percorso retronasale gioca un ruolo fondamentale nella generazione del sapore dei cibi e delle bevande, quando le molecole volatili rilasciate nella bocca durante la masticazione raggiungono l'epitelio olfattivo attraverso la nasofaringe durante l'espiazione.

L'epitelio olfattivo è un epitelio specializzato pseudo stratificato composto di tre tipi di cellule: neuroni olfattivi sensoriali, cellule di supporto e cellule basali. Negli esseri umani l'epitelio olfattivo ha una superficie media di 2-4 cm<sup>2</sup> e contiene circa 6 milioni di neuroni sensoriali olfattivi in ciascuna cavità nasale.

Tali neuroni olfattivi sono responsabili del rilevamento di molecole odorose e della generazione della risposta elettrica che viene trasmessa al cervello. Hanno una morfologia bipolare, con un singolo dendrite che termina in una protuberanza con molte ciglia che espongono la loro membrana verso l'ambiente esterno per entrare in contatto con le molecole odorose ed un singolo assone che proietta direttamente nel bulbo olfattivo del cervello. Le ciglia di neuroni differenti sono strettamente intermescolati e immersi in uno spesso strato di muco prodotto dalle ghiandole di Bowman. La presenza di numerose ciglia consente un grande aumento dell'area di membrana disponibile all'interazione con molecole odorose.

# RECETTORI OLFATTIVI



- Recettori accoppiati alle proteine G
- 3 Famiglie di geni:
- **Recettori olfattivi** (sostanze aspecifiche)
- **Recettori vomeronasali 1:** accoppiati a G<sub>i</sub> (feromoni)
- **Recettori vomeronasali 2:** accoppiati a G<sub>o</sub> (peptidi?)
- Regioni ipervariabili: contatto con il ligando

I recettori olfattivi appartengono alla superfamiglia dei recettori accoppiati alla proteina G ed hanno una struttura generale tipica comprendente sette domini transmembrana.

I primati, umani compresi, possiedono circa 300-400 geni funzionali per recettori olfattivi, mentre topi e ratti possiedono circa 1000-1200 geni intatti.

Per capire come il sistema olfattivo discrimina tra le molecole odorose, è importante conoscere quanti tipi di recettori olfattivi vengono espressi in ciascun neurone sensoriale olfattivo e determinare i legandi di ciascun recettore.

E' ormai ben stabilito che ciascun neurone sensoriale olfattivo esprime soltanto un gene preposto alla formazione del recettore.

Sulla base dello schema di espressione dei recettori olfattivi, l'epitelio olfattivo può essere diviso in quattro (topo e ratto) o due (macaco) zone.

All'interno di una data zona, i neuroni sensoriali olfattivi che esprimono un dato recettore sono distribuiti a caso.

Nonostante i molti studi non si sono fatti molti passi in avanti nell'individuazione di quali legandi si legano ai diversi recettori, soprattutto nel caso degli esseri umani.

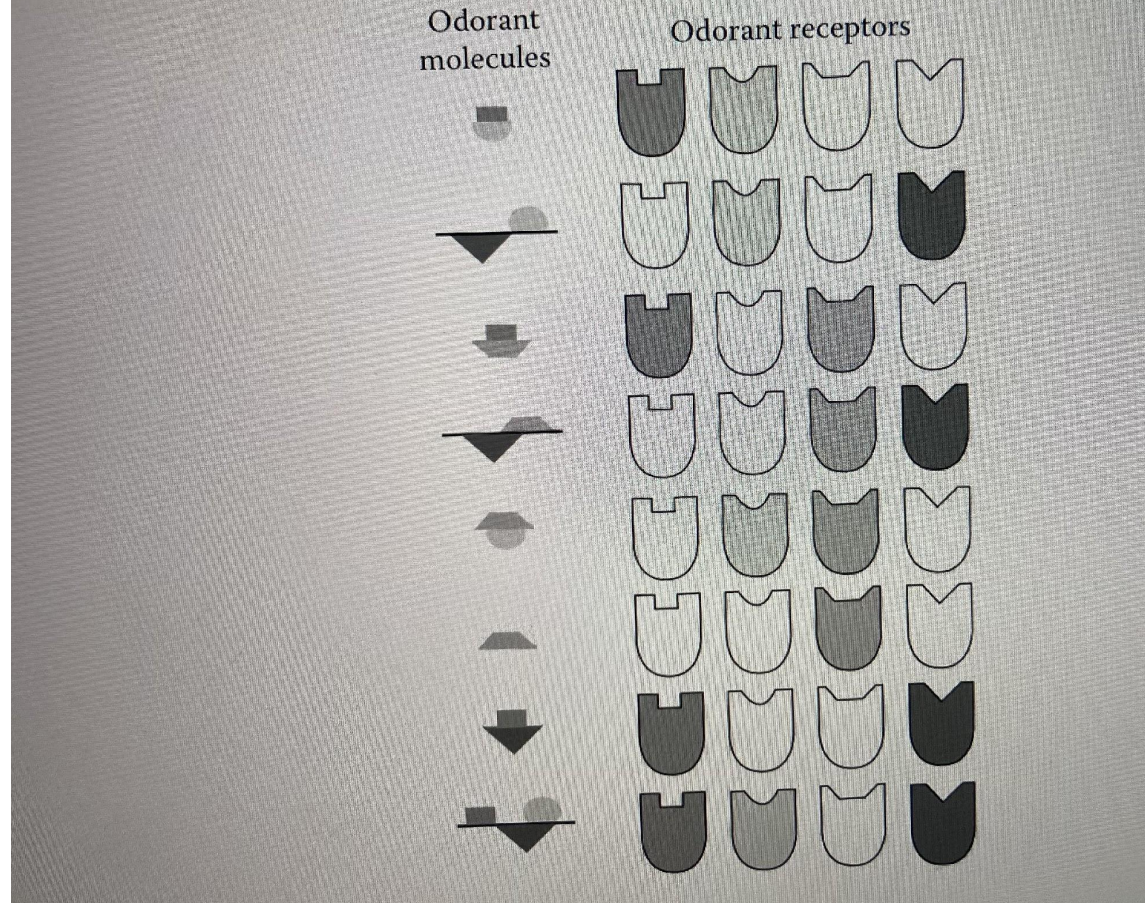
A dispetto di queste limitazioni si è verificato che la famiglia dei recettori odoriferi usa un codice combinatorio per discriminare tra le molecole odorose.

**Ciascun recettore odorifero può essere attivato da molti tipi di molecole odorose, ed un dato tipo di molecola odorosa può attivare molti recettori.**

Tuttavia ciascuna molecola odorosa è codificata dalla attivazione di una combinazione unica di recettori odoriferi.

Un grande vantaggio di questo codice combinatoriale è rappresentato dalla possibilità di rivelare e discriminare un gran numero di molecole odorose.

## The Olfactory System

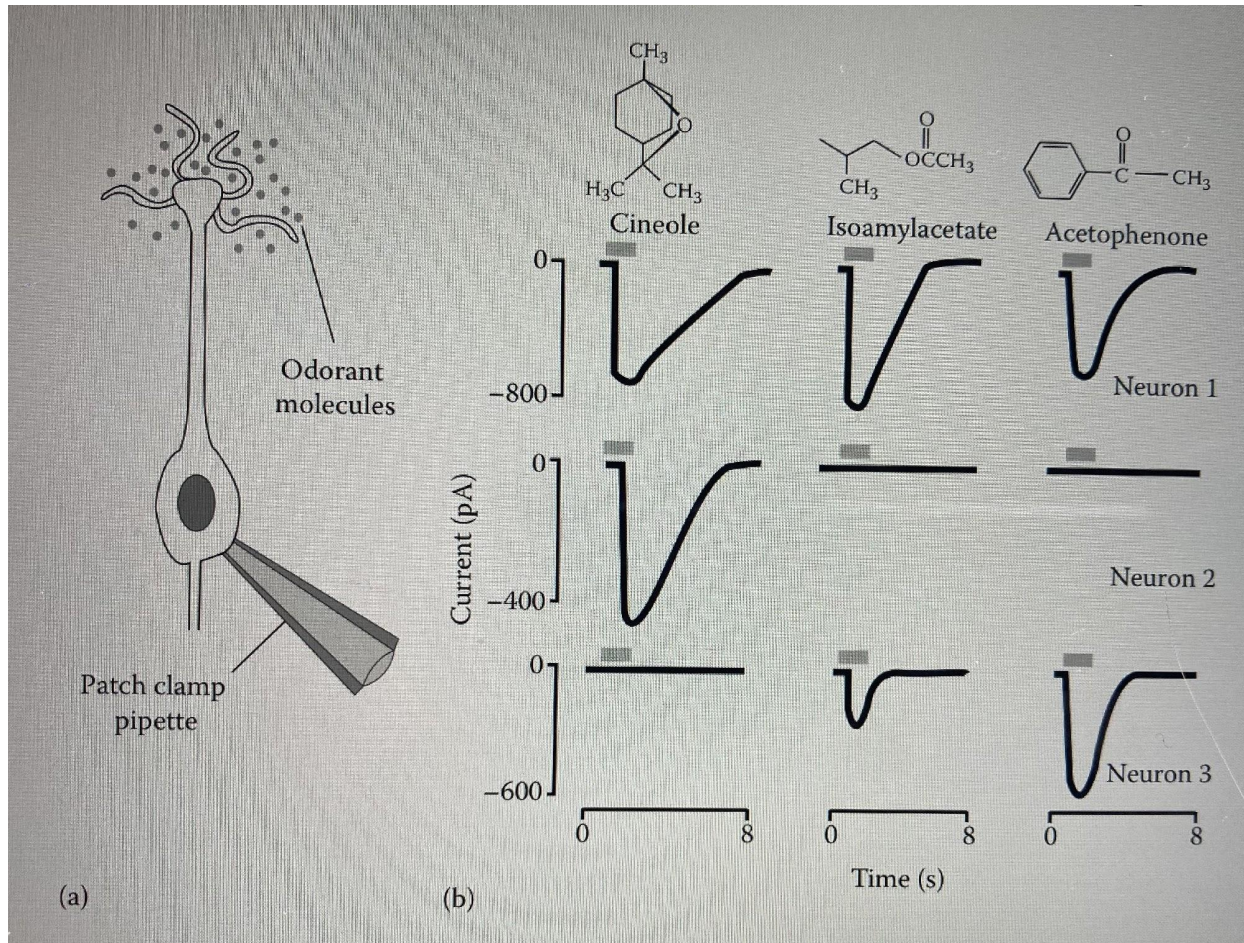


Codice combinatoriale usato dai recettori olfattivi per discriminare diverse molecole odorose. Quattro recettori odoriferi sono disegnati schematicamente sulla destra. I recettori messi in risalto possono essere attivati dalle corrispondenti molecole odorose disegnate nella colonna a sinistra. Una data molecola odorosa attiva una particolare combinazione di recettori olfattivi. Un recettore olfattivo può essere attivato da parecchie molecole odorose.

## RISPOSTE ELETTRICHE DEI NEURONI SENSORIALI OLFATTIVI.

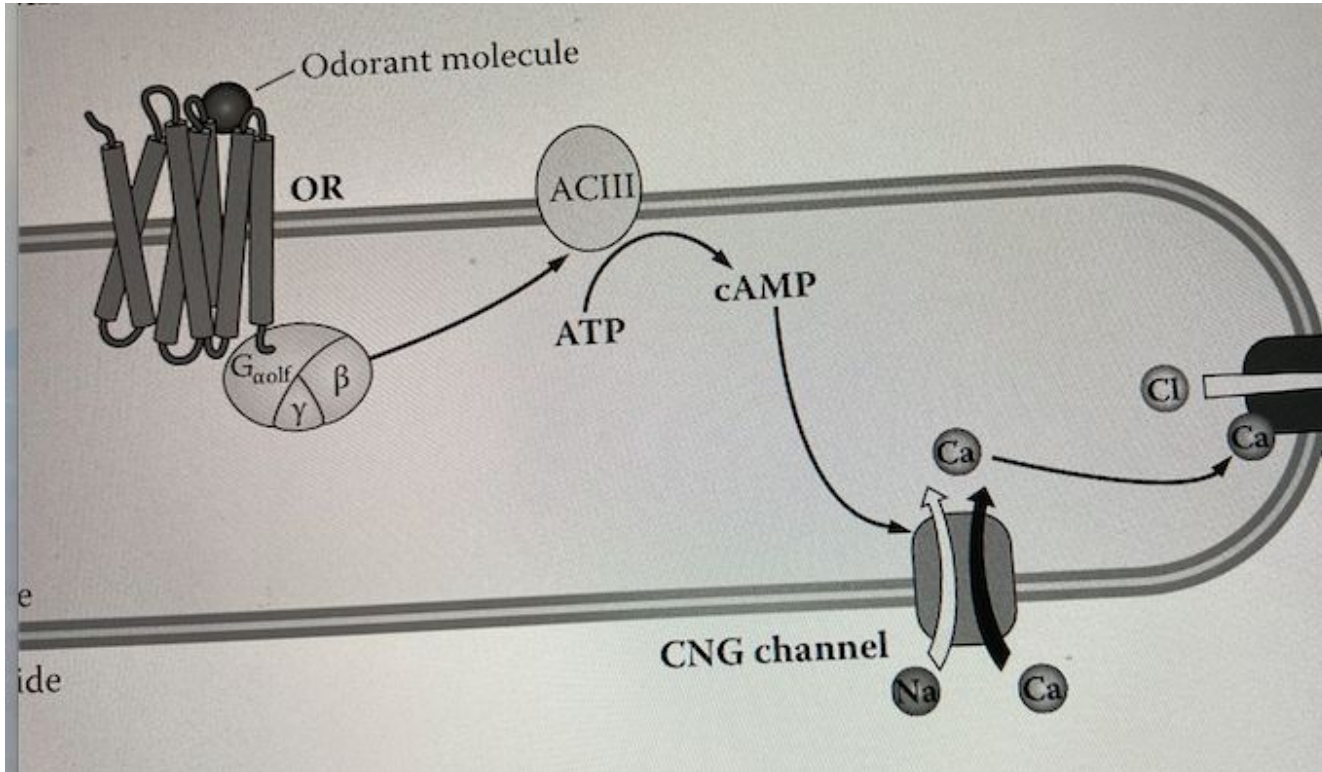
Il legame degli odoranti ai recettori olfattivi è convertito in un segnale elettrico nei neuroni sensoriali olfattivi

Con tecniche elettrofisiologiche è possibile registrare la risposta di neuroni sensoriali olfattivi a stimoli odorosi.





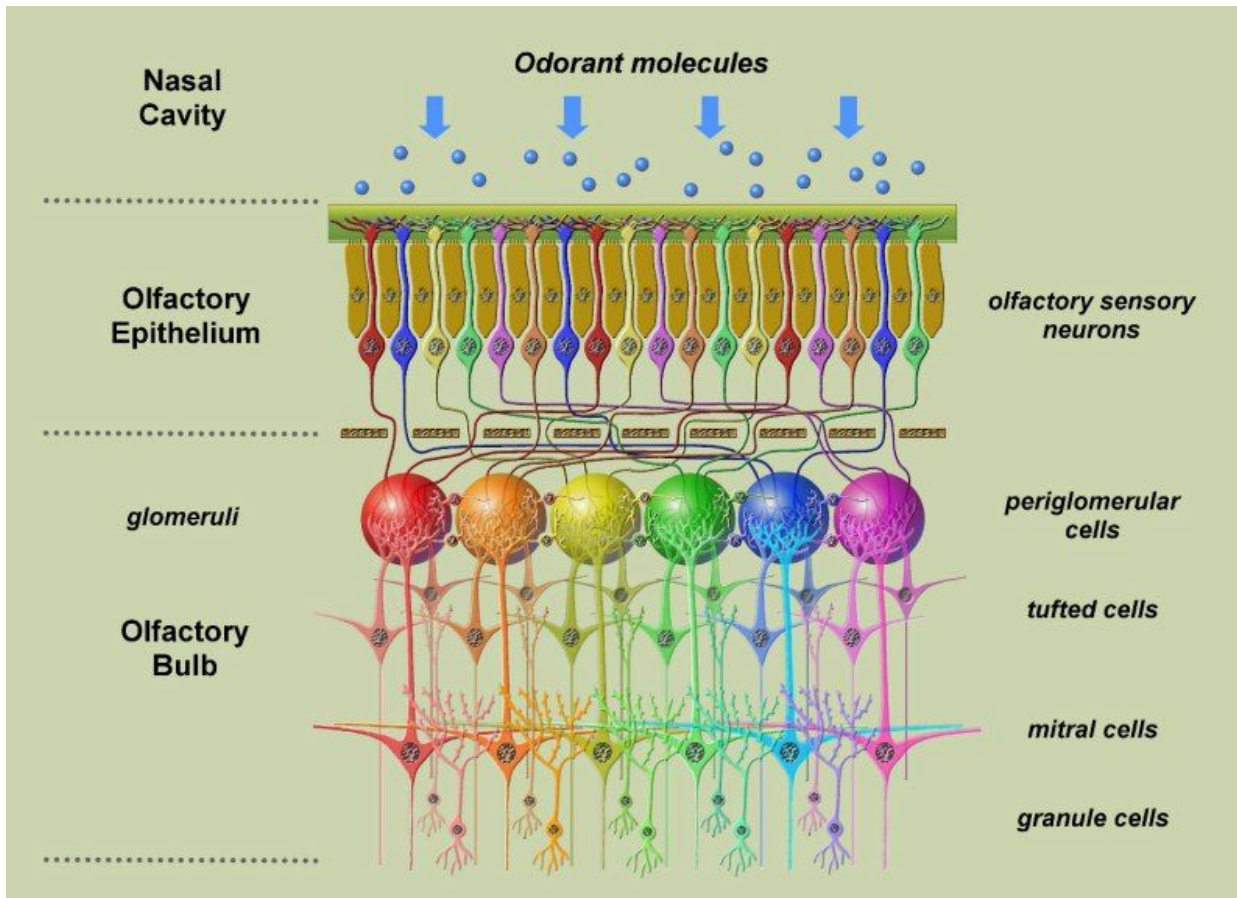
La «trasduzione» olfattiva è il processo cellulare che converte l'informazione trasportata dagli odoranti in un segnale bioelettrico. La trasduzione ha luogo nelle ciglia dei neuroni sensoriali olfattivi, i quali, nonostante esprimano differenti recettori, condividono largamente gli stessi meccanismi di trasduzione molecolare. Il legame di molecole odorose a un recettore provoca l'attivazione di una proteina G trimerica composta di  $G_{\alpha_{olf}}$  e subunità  $\beta\gamma$ . A sua volta la proteina G stimola l'attività enzimatica di una specifica proteina che provoca un aumento nella concentrazione di AMP ciclico



La membrana cigliare esprime canali cosiddetti CNG che sono direttamente regolati nell'apertura dall'AMP ciclico. Questi canali non sono cationi selettivi e quindi l'attivazione dei recettori olfattivi provoca il passaggio sia di  $Na^+$  che di  $Ca^{2+}$ . L'aumento della concentrazione di  $Ca^{2+}$  intracellulare provoca l'attivazione di un secondo tipo di canale ionico, chiamato TMEM16B, che è selettivo per  $Cl^-$ . Poiché i neuroni sensoriali olfattivi mantengono una elevata concentrazione intracellulare di  $Cl^-$  l'attivazione di TMEM16B causa una fuoruscita di  $Cl^-$  ed una conseguente amplificazione della risposta odorosa.

Il bulbo olfattivo è la prima parte dell'encefalo preposta a processare l'informazione trasmessa dai neuroni sensoriali olfattivi concernenti molecole odorose presenti nel mondo esterno.

Gli assoni dei neuroni sensoriali olfattivi costruiscono dei contatti sinaptici con i dendriti delle cellule principali del bulbo, cellule mitrali e a ciuffo, nei glomeruli sullo strato superficiale del bulbo.



Il bulbo olfattivo negli umani è costituito da una coppia di strutture di forma ovale, con un volume di circa 30-60 mm<sup>2</sup>, collocate sotto la superficie ventrale del lobo frontale del cervello

La maggior parte delle sensazioni odorose nell'ambiente esterno sono composte da una complessa miscela di molecole odorose strutturalmente differenti, ma il sistema olfattivo è in grado di sintetizzare questi segnali in un oggetto percettivo unitario.

In un contesto naturale, un dato stimolo odoroso deve essere percepito in presenza di un variabile sottofondo di altre sensazioni odorose. Quindi, il sistema olfattivo deve essere in grado di filtrare selettivamente l'informazione dal sottofondo, percependo **l'informazione rilevante**.

Inoltre, un oggetto olfattivo non ha una composizione costante dei suoi componenti odorosi e le molecole che raggiungono l'epitelio olfattivo possono cambiare per molte ragioni.

Il processo di adattamento, che si verifica a vari livelli del sistema olfattivo, gioca un ruolo importante nella identificazione di un odore in presenza di altri odori, in quanto produce una diminuzione della risposta agli odori del sottofondo, consentendo la rivelazione di altri stimoli.

Dati psicofisici hanno mostrato che gli esseri umani rispondono più rapidamente a stimolazioni odorose quando ci si aspetta lo stimolo, dimostrando che **l'attenzione può influenzare la percezione olfattiva**.

Alcune sensazioni odorose hanno un valore edonistico positivo e sono percepite come piacevoli, alcune altre hanno un valore edonistico negativo e vengono quindi indicate come spiacevoli. Il valore edonistico può variare tra le popolazioni ed anche tra individui della stessa popolazione ed è stato dimostrato che la risposta edonistica può essere appresa sulla base dell'esperienza.

Tuttavia l'intensità ed il valore edonistico sono spesso strettamente interconnessi; per es. un odore piacevole ad una data concentrazione può diventare spiacevole quando la concentrazione diventa molto elevata.

E' stato trovato che l'amigdala viene primariamente attivata dalla intensità di odori piacevoli o spiacevoli, ma non da odori che hanno un valore edonistico neutro.

Inoltre l'amigdala è coinvolta nelle elaborazioni olfattive dipendenti da stati emozionali. In condizioni ansiose odori precedentemente neutri possono essere percepiti come non piacevoli ed in questi casi evidenze sperimentali hanno rivelato che una attività evocata da odore nella amigdala rimane attiva anche dopo l'adattamento all'ansia.

Il valore edonistico di un odore è rappresentato in differenti aree della corteccia orbito-frontale, così come in altre regioni corticali. Odori piacevoli attivano preferenzialmente regioni mediali orbitofrontali, mentre odori spiacevoli attivano di più regioni orbitofrontali laterali.

Un altro esempio di modificazione della piacevolezza soggettiva di un odore è dato dal ben noto fenomeno della sazietà sensoriale-specifica.

E' stato portato a termine uno studio che investigava le risposte edonistiche agli odori di banana e vaniglia prima e dopo che la banana venisse mangiata a sazietà, utilizzando la attività della risposta della corteccia orbitofrontale.

Prima di mangiare la classificazione della piacevolezza di banana e vaniglia erano simili e gli odori corrispondenti producevano una attivazione molto simile della corteccia orbitofrontale.

Tuttavia dopo che la banana veniva mangiata a sazietà il suo odore diventava spiacevole e la attivazione della stessa regione della corteccia orbitofrontale diminuiva. Per contro non si verificava una analoga diminuzione nei confronti dell'odore della vaniglia che continuava a rimanere piacevole.

Fermandoci qui nell'esposizione dei dettagli riguardanti i modi in cui le sostanze aromatiche vengono percepite originando segnali elettrici successivamente elaborati da individuate zone cerebrali, possiamo ora a trattare da diversi punti di vista il settore botanico terapeutico che si basa su questi fenomeni vale a dire L'AROMATERAPIA.

Una prima definizione operativa potrebbe essere la seguente:

L'aromaterapia è una pratica che trae vantaggio dalle proprietà salutari di piante terapeutiche ed oli essenziali.

Gli oli essenziali e le essenze sono miscele di sostanze volatili le cui composizioni chimiche sono molto complesse e presenti in più di 17000 piante.

Tali sostanze, liquide a temperature relativamente basse, sono presenti in tutti gli organi della pianta, sono insolubili o scarsamente solubili in acqua, e solubili in alcool ed altri solventi organici. Per via della loro natura volatile hanno tutte un forte, per lo più piacevole, odore.

I principali costituenti chimici degli oli essenziali sono rappresentati da idrocarburi, terpeni e loro derivati aromatici e ossigenati.

Nel mondo centinaia di specie vengono date come piante medicinali e aromatiche.

Alcune di esse sono tra le più popolari spezie e erbe come il basilico, la menta e la salvia. Ma alcune di esse sono state «promosse» a sorgenti di componenti fitochimici (soprattutto sotto forma di oli essenziali) o farmaci vegetali, specialmente perché in anni recenti sono stati fatti progressi significativi nelle investigazioni biologiche e fitochimiche.

La maggior parte degli studi e delle esperienze cliniche hanno fornito indicazioni che vari oli essenziali come lavanda, limone e bergamotto possono aiutare ad alleviare stress, ansia, depressione ed altri disordini dell'umore.

Più precisamente, l'inalazione di oli essenziali può comunicare segnali al sistema olfattivo e stimolare il cervello a impiegare neurotrasmettitori (per es. serotonina e dopamina) tutti alla fine regolatori dell'umore.

Gli oli essenziali chiamati anche essenze, oli volatili e oli eterei sono miscele di sostanze aromatiche prodotte da molte piante e presenti in forma di piccole goccioline nelle foglie, nella buccia della frutta, nelle resine e nel legno.

Perché così tante piante producono oli essenziali?

Le necessità di adattamento dell'habitat vegetativo è la miglior risposta a questa domanda.

Alcuni oli essenziali possono non soltanto agire come repellenti di insetti, ma anche prevenire la loro riproduzione.

In molti casi è stato dimostrato che le piante attraggono insetti che a loro volta assistono il processo di impollinazione della pianta.

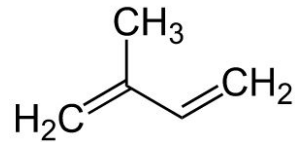
E' stato altresì dimostrato che certe piante comunicano mediante l'azione dei loro oli essenziali.

Qualche volta gli oli essenziali sono considerati essere semplici prodotti di scarto. Questo può essere così nel caso degli eucalipti, in quanto le cellule presenti nelle foglie mature della specie *Eucalyptus* sono completamente isolate e immerse profondamente entro la struttura della foglia.

In certi casi gli oli essenziali agiscono come inibitori di germinazione, riducendo perciò la competizione da parte di altre piante.

Vediamo adesso qualcosa di più sulle strutture chimiche dei componenti degli oli essenziali

La classe più rappresentata è quella dei TERPENOIDI che sono definite come sostanze composte di unità di isoprene (2-methylbutadiene)

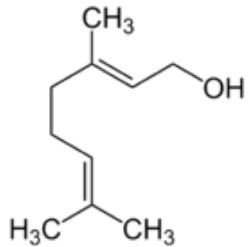


La direzione di accoppiamento delle unità isopreniche è quasi sempre in una sola direzione, il cosiddetto accoppiamento testa-coda, che spiega la biosintesi di tutti i terpenoidi.

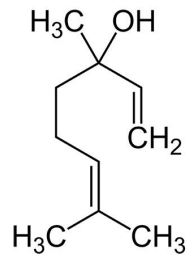
La chimica delle reazioni di formazione ha luogo sotto il **controllo di enzimi** presenti in una data pianta.

Perciò la composizione in oli essenziali può fornire informazioni circa la costituzione genetica della pianta.

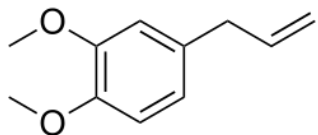
Vediamo adesso alcuni singoli componenti le cui proprietà sono collegabili ai molteplici usi, non ultimi clinici, degli oli essenziali. Incominciamo dal **geraniolo**.



Come si vede è un alcool. Contenuto anche in verbena, melissa, mirto. Viene estratto dalle foglie e dai fiori del geranio, insieme al linalolo all' $\alpha$ -terpineolo e al metil eugenolo. Sperimentalmente è attivo verso i tumori intestinali ed il carcinoma mammario, e sinergizza con i farmaci attivi contro questi tipi di neoplasie (come il 5-fluorouracile).

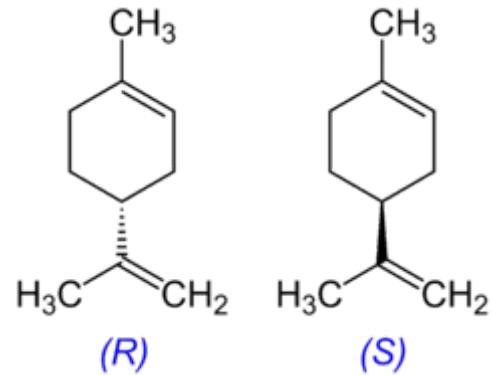


Linalolo. Contenuto anche in coriandolo, basilico, lavanda, bergamotto. Nell'ultimo decennio è oggetto di sperimentazione scientifica, perché si pensa che possa avere un ruolo modulatore sulla neurotrasmissione del glutammato e quindi interferire sui meccanismi della memoria.



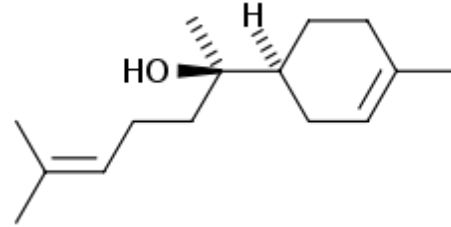
Metileugenolo. Contenuto anche in basilico (concentrazioni elevate), prezzemolo, menta, dragoncello (concentrazioni basse) e nelle spezie (zenzero, noce moscata).

Un gran numero di composti che sono comunemente presenti in oli essenziali sono chirali e, conseguentemente, le possibili differenze esistenti tra l'attività biologica, metabolismo e tossicologia delle coppie enantiomeriche che si verificano nel campione devono essere accuratamente stabilite. Da questo punto di vista un componente terpenico molto interessante è il limonene che, come si vede, esiste in due forme chirali. L'isomero S sa di trementina mentre l'isomero R sa di limone o arancia.



L'R-limonene è anche un possibile candidato per una varietà di applicazioni mediche, tra cui il cancro e l'AIDS, ed è stato notato per avere proprietà insetticide. Recenti studi infatti paiono rivelare che il limonene abbia proprietà anticancerogene. Incrementa i livelli di enzimi epatici utilizzati nella neutralizzazione dei carcinogeni. Il limonene pare promuovere il sistema GST (Glutathione-S-Transferasi, implicato nell'eliminazione dei carcinogeni) del fegato e dell'intestino attenuando l'effetto causato dai carcinogeni. Studi su animali dimostrano che il limonene ha proprietà chemiopreventive in forme tumorali. Negli esseri umani, se presente nella dieta riduce la crescita tumorale al seno.

Fanno parte della frazione volatile di oli essenziali anche i sesquiterpeni (che contengono cioè 15 atomi di carbonio) e derivano da tre unità isopreniche. Un esempio tipico è il bisabololo:



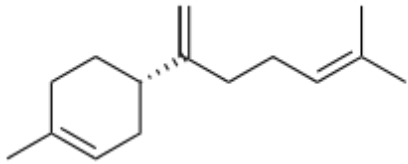
Costituisce il componente principale (10-25%) dell'olio essenziale di camomilla derivato dai capolini freschi o essiccati. Possiede proprietà calmanti ben conosciute da secoli. Viene anche utilizzato in numerosi prodotti cosmetici perchè ha proprietà lenitive e disarrossanti.



Capolini. Insieme di piccoli fiori inseriti nel ricettacolo del fiore.

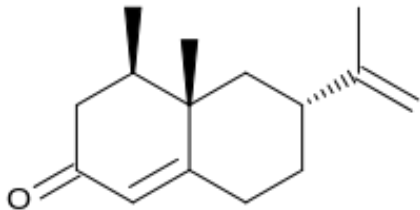


Il bisabololo è strutturalmente collegato al bisabolene, al zingiberone e al beta-sesquifellandrene.



Bisabolene. Contribuisce all'aroma del ginger.

La ciclizzazione della catena laterale contenente il doppio legame dà luogo a due molecole molto importanti nella formulazione di profumi: il nootkatone e il vetiverone.



Nootkatone. Presente nella buccia di vari frutti come il bergamotto e il pompelmo. Proprietà insetticide.

Il vetiverone è una molecola isomera del nootkatone che differisce solo per la posizione del doppio legame nella catena laterale.

Gli oli essenziali sono stati usati nelle medicine tradizionali fin dai tempi antichi; tuttavia la ricerca in questo settore è tuttora in fase di crescita ed un approccio sistematico e rigoroso allo studio delle attività biologiche di potenziali fitoterapeutici è acquisizione solo degli ultimi decenni. Ciò è particolarmente vero per gli effetti citotossici dei fitocomplessi.

Dalla letteratura disponibile, gli oli essenziali sembrano avere un grande potenziale come agenti terapeutici anti-tumorali; tuttavia l'informazione riguardante i loro meccanismi di azione così come le loro tossicità sono ancora lacunose e lontane dall'essere delucidate.

Vediamo in ogni caso qualche dettaglio sul ruolo degli oli essenziali nella terapia dei tumori.

I limiti delle correnti terapie antitumorali includono lo sviluppo di resistenze multifarmaco, importanti effetti collaterali e costi elevati, che sottolineano la necessità ancora non affrontata di interventi più efficaci e meno tossici.

Perché gli oli essenziali possono candidarsi come una possibile alternativa?

**Per l'ampia varietà della loro bioattività.**

Quali bioattività conosciamo dal loro uso tradizionale?

Antisettiche (battericide, virulicide, fungicide)

Analgesiche

Sedative, antiinfiammatorie

Spasmolitiche

Anestetiche locali

Dai meccanismi sottostanti a queste proprietà sono state dedotte delle potenzialità antitumorali.

Vediamone un piccolo esempio.

## MECCANISMI SOTTOSTANTI LA CITOTOSSICITA' DI OLI ESSENZIALI

Come è noto il cancro è una malattia complessa in cui le cellule non rispondono più ai segnali collegati alla proliferazione, differenziazione e morte cellulare.

Infatti le caratteristiche delle cellule cancerose includono il mantenimento dei segnali di proliferazione, la capacità di eludere i soppressori della crescita, la resistenza alla morte cellulare, l'induzione di angiogenesi e l'attivazione di strategie invasive e metastasi.

La chemioterapia quindi spesso si basa sulle proprietà di farmaci di ridurre la capacità delle cellule tumorali di crescere e dividersi e di indurre danni e morte cellulare.

Gli oli essenziali e i loro costituenti hanno evidenziato differenti meccanismi di intervento sulle cellule tumorali:

Induzione di morte cellulare per apoptosi o necrosi

Arresto del ciclo cellulare

Perdita delle funzioni di organelli cellulari chiave

Alcuni di questi effetti sono ascrivibili alla natura lipofila e ai bassi pesi molecolari dei costituenti degli oli essenziali che consentono loro di attraversare le membrane cellulari, alterando gli strati fosfolipidici, aumentando la fluidità delle membrane e portando alla perdita di ioni e contenuto citoplasmatico.

Una ridotta produzione di ATP, l'alterazione del gradiente di pH e la perdita del potenziale mitocondriale sono appena alcune conseguenze dell'alterazione delle membrane cellulari.

Inoltre, oli essenziali possono anche agire come pro- e anti-ossidanti, influenzando lo stato ossido-riduttivo cellulare.

TABLE 8.1

## List of Essential Oils Showing Cytotoxic Properties

Plant Name	Cell Line/Animal	Effects	References	
<i>Artemisia annua</i>	Hepatocarcinoma	Apoptosis	Li et al., 2004	
<i>Artemisia capillaris</i>	Human oral epidermoid carcinoma	Apoptosis	Cha et al., 2009	
<i>Artemisia vulgaris</i>	Human acute myelogenous leukemia	Growth inhibition	Saleh et al., 2014	
	Human acute T lymphocytic leukemia	apoptosis		
	Human chronic myelogenous leukemia			
	Breast adenocarcinoma			
	Prostate adenocarcinoma			
	Hepatocellular carcinoma			
	Cervical carcinoma			
<i>Cedronella canariensis</i>	Human melanoma	Cytotoxicity		Zorzetto et al., 2015
	Human breast adenocarcinoma			
	Human colon carcinoma			
<i>Citrus bergamia</i>	Human neuroblastoma	Necrosis and apoptosis Cytoskeletal alterations Autophagy induction	Berliocchi et al., 2011; R. Russo et al., 2013, 2014	
	Human breast cancer	Autophagy induction	Russo et al., 2014	
<i>Citrus sinensis</i>	Colon cancer	Apoptosis inhibition of cell migration Reduced VEGF expression	Chidambara Murthy et al., 2012	
<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Neuroblastoma Colon Liver Cervix	Cytotoxicity	Sharma et al., 2009	
	Solid and ascitic Erlich and Sarcoma-180 tumor models in mice	Tumor growth inhibition Decreased ascitic volume		
<i>Eucalyptus benthamii</i>	Cervical cancer Murine macrophage tumor Human T leukemia	Cytotoxicity	Doll-Boscardin et al., 2012	
<i>Eucalyptus sideroxyylon</i>	Human breast adenocarcinoma	Cytotoxicity	Ashour, 2008	
<i>Eucalyptus torquata</i>	Human breast adenocarcinoma	Cytotoxicity	Ashour, 2008	
<i>Laurus nobilis</i>	Amelanotic melanoma	Cytotoxicity	Loizzo et al., 2007	

(Continued)

TABLE 8.1 (CONTINUED)

## List of Essential Oils Showing Cytotoxic Properties

Plant Name	Cell Line/Animal	Effects	References
<i>Malaleuca alternifolia</i>	Cervical cancer Acute lymphoblastic leukemia Erythromyeloblastoid leukemia Acute myeloid leukemia Human melanoma	Antiproliferative	Hayes et al., 1997; Mikus et al., 2000; Schnitzler et al., 2001; Soderberg et al., 1996
	Murine mesotelioma Murine melanoma Melanoma	Antiproliferative apoptosis	Calcabrini et al., 2004; Soderberg et al., 1996
	Subcutaneous tumor established in mice	Cytotoxicity Reduced migration and invasion Necrosis Slower growth Temporary regression Activation of local immune response	Greay et al., 2010b Bozzuto et al., 2011 Greay et al., 2010a; Ireland et al., 2012
<i>Melissa officinalis</i>	Human lung, colon, breast cancer leukemias Mouse melanoma Human glioblastoma multiforme	Cytotoxicity	de Sousa et al., 2004
	Solid tumor-bearing mice	Apoptosis	Queiroz et al., 2014
<i>Nigella sativa</i>	Erlich ascites carcinoma developed in mice	Inhibition of tumor development Reduced liver metastasis	Ait M'barek et al., 2007a
	Human breast cancer Hormone-dependent prostate carcinoma Human ovarian cancer Human hepatocellular liver carcinoma	Improved survival Growth inhibition Antiproliferative	Salomi et al., 1991 Hussain et al., 2010
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Human breast cancer Human melanoma	Cytotoxicity	Wang et al., 2012
<i>Salvia bracteata</i>	Human melanoma	Apoptosis	Cardile et al., 2009
<i>Salvia libanotica</i>	Human colon cancer	Cell cycle arrest and apoptosis	Ihani et al., 2008
	Mouse papilloma	Antiproliferative	Gali-Muhtasib and Affara, 2000
	Mouse fibrosarcoma Metastatic human breast carcinoma	Antiproliferative	Kaileh et al., 2007

## ALCUNI ESEMPI.

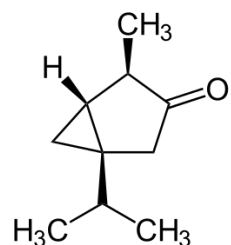
### *Salvia*

La salvia è probabilmente il più esteso genere all'interno della famiglia delle Lamiaceae, che consiste di circa 900 specie ampiamente distribuite lungo tutto il pianeta.

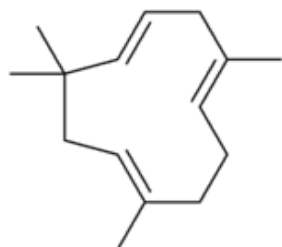
La pianta cresce in regioni temperate, subtropicali e tropicali con i principali centri collocati nel Mediterraneo, Asia centrale, Messico, America centrale e del sud e Sudafrica.

Come suggerito dal suo nome latino che significa salvare o curare, in particolare la *Salvia Officinalis* è stata utilizzata per centinaia di anni nella medicina tradizionale per trattare febbri, traspirazione eccessiva, debolezza sessuale, infezioni e infiammazioni di gola e bocca, bronchite cronica e malattie mentali.

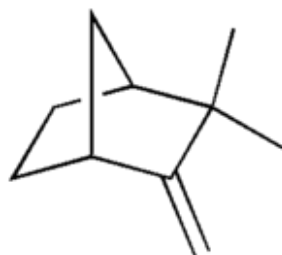
La sua composizione è la seguente:



$\alpha$ -Tujone (1.8%-4.3%) e  $\beta$ -Tujone (3%-8.5%)



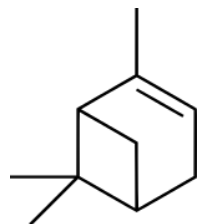
Humulene (0%-12%)



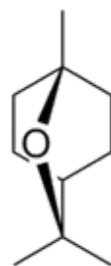
Camphene (1.5%-7%)



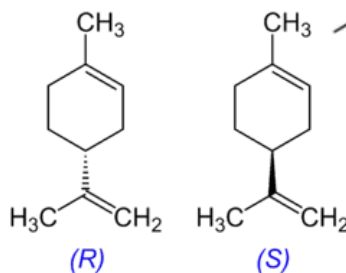
Canfora (4.5%-24.5%)



$\alpha$ -pinene (1%-6.5%)



1,8-cineolo 5.5%-13%)



Limonene (0.5%-3%)

Le attività anti proliferative e citotossiche derivano dalle parti aeree. L'attività citotossica si esercita sulle linee cellulari umane di melanoma (C32 amelanotico) e di adenocarcinoma renale.

Non si è trovata nessuna relazione tra l'attività e uno dei costituenti principali (1,8-cineolo), inverando il concetto che differenti costituenti potrebbero agire insieme per aumentare gli effetti osservati.

**Sono stati verificati soltanto effetti minimi sulle cellule umane normali.**

## ROSMARINO

Antibatterico, antimutageno, antiossidante.

La composizione qualitativa è molto simile a quella della Salvia:

1,8-cineolo,  $\alpha$ -pinene, canfora, limonene, camphene, linaloolo.

Proprietà antiproliferativa nei confronti del tumore al seno e del carcinoma della prostata ormone-dipendente.

Anche qui l'olio essenziale dimostra una più alta tossicità dei suoi singoli principali componenti.

L'ordine di tossicità determinato è

Olio essenziale >  $\alpha$ -pinene >  $\beta$ -pinene > 1,8-cineolo.

## MELISSA

Proprietà digestive, antispasmodiche, sedative, antivirali e antiossidanti.

Attività citotossica nei confronti di linee cellulari umane di cancro polmonare, al colon, al seno e leucemiche.

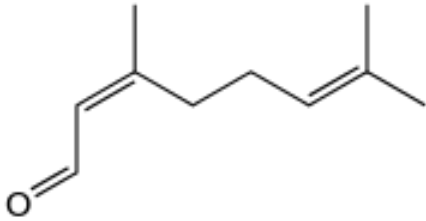
In questi studi la diluizione dell'olio essenziale varia da 1:50000 a 1:2000 inducendo una capacità inibitrice di crescita cellulare tumorale dipendente dalla dose.

L'effetto antitumorale della Melissa è stato anche studiato nei confronti di linee cellulari del glioblastoma multiforme umano, individuando un effetto apoptotico dose-dipendente.

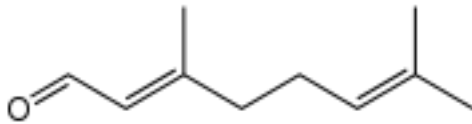
Il glioblastoma è la più comune e aggressiva forma di glioma e la resistenza delle cellule tumorali ai farmaci limita le possibilità di trattamenti di successo, peggiorando la prognosi.

Di grande interesse è il fatto che il monoterpene Citrale che rappresenta più dell'85% dell'olio essenziale di Melissa, riproduce

le caratteristiche di citotossicità dell'olio essenziale.



Il citrale è il nome assegnato ad una miscela di due isomeri il Nerale e il Geraniale



Altri oli essenziali con importanti proprietà antitumorali in fasi di studio sono il Timo ,l'Eucalipto, il Bergamotto, l'Artemisia.

Quello che sembra deducibile dalla somma di questi studi è che la presenza nel fitocomplesso degli oli essenziali di numerosi costituenti che simultaneamente interferiscono con cammini multipli di segnalazione potrebbe essere la chiave per superare l'attuale limite degli agenti chemioterapici, in particolare l'instaurarsi del fenomeno della resistenza multi-farmaco.

Esiste tuttavia una caratteristica poco piacevole degli oli essenziali, la loro **fotossicità**.

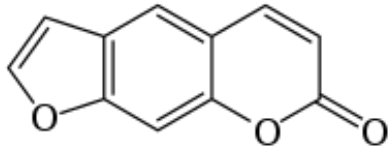
Infatti certi oli essenziali contengono sostanze chimiche che incrementano la possibilità di avere una risposta tossica alla luce del sole.

Il potenziale fototossico di composti presenti negli oli essenziali rappresenta quindi un problema che riguarda il loro uso e produzione.

Per questa ragione la ricerca si è focalizzata sulla identificazione di quali agenti fotoreattivi si possono trovare in questi prodotti e come prevenire o tenere sotto controllo i disordini derivanti dalla fotosensibilità.

Questo tipo di problemi legato alle sostanze vegetali è noto da migliaia di anni.

Per fare un esempio nell'antico Egitto, India e Grecia estratti di piante contenenti Psoralene (fotosensibilizzante) venivano esposti alla luce del sole per trattare malattie della pelle.



Il razionale scientifico che sta dietro a questa antica pratica empirica è che, per effetto dei raggi UV, che determinano un aumento della sua reattività, lo psoralene è in grado di legarsi a ponte fra due timine. Ciò induce errori di replicazione del DNA delle cellule colpite, provocandone la morte.

Attualmente questo meccanismo è sfruttato nella medicina moderna per curare malattie come la psoriasi, dove l'assunzione dello psoralene viene associata all'esposizione a raggi UV.

Tale tecnica è detta fotochemioterapia ed è usata anche per la cura di altre patologie cutanee.

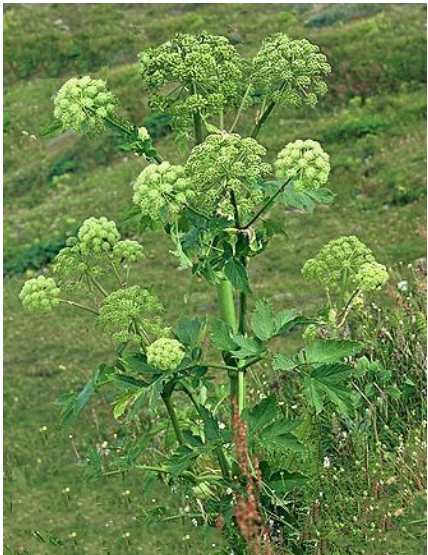
In tempi molto più vicini (1897) sono stati riportati nella letteratura scientifica casi di dermatiti a seguito di contatto con Pastinaca o Angelica.





Pastinaca. Pianta biennale appartenente alla famiglia delle Apiaceae. La lunga radice, bianca e carnosa, dal sapore acidulo, viene consumata come ortaggio dopo la cottura.

L'introduzione in Italia sembra risalire all'imperatore Tiberio (42 a.C.- 37 d.C.) che la importò dalla valle del Reno. Grande diffusione nel Medio Evo, soppiantata poi dalle patate.



Angelica. Sempre una Apiacea. Le foglie fresche di una Angelica diffusa in Giappone contengono un flavonoide che ha importanti proprietà antiossidanti che allungherebbe la vita di molti animali e anche alle cellule umane (studi preliminari).

Un famoso ultracentenario francese Annibal Camoux (La Turbie 1638-Marsiglia 1759) affermava di aver mantenuto la propria forza anche in tarda età dalla masticazione quotidiana delle foglie della pianta di Angelica.

In realtà la presunta raggiunta età di 121 anni sembra sia una bufala. Ricercatori storici gli avrebbero assegnato in realtà una età di 90 anni, comunque considerevole dati i tempi.

Utilizzo attuale più comune: Pasticceria e industria dei liquori.

Circa un centinaio di anni fa si è osservato che l'applicazione di acqua di colonia contenente olio di bergamotto poteva produrre tipiche lesioni iperpigmentate al sole.

La fotosensibilità indotta da sostanze chimiche è chiamata fotodermatosi, una particolare condizione patologica della pelle determinata da agenti esogeni, usati topicamente o sistemicamente, che si verifica in presenza di raggi UVA (320-400 nm)

La fototossicità può essere più specificamente classificata in due gruppi : fototossicità e fotoallergia.

La fototossicità è una diretta ferita del tessuto, causata da un agente fototossico e dalla radiazione, che può verificarsi in ogni singolo individuo senza una specifica predisposizione.

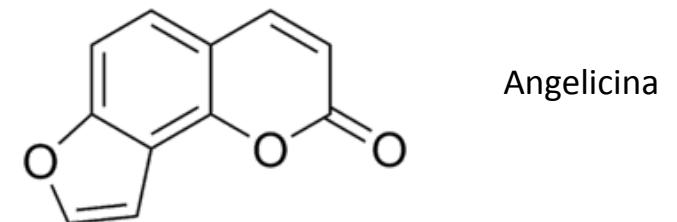
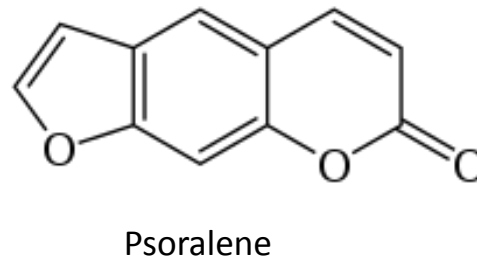
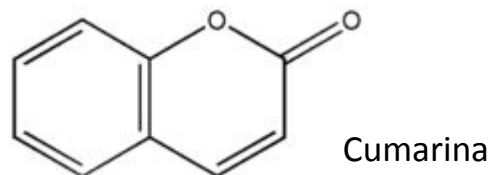
All'opposto la fotoallergia è una reazione di ipersensibilità ad azione ritardata.

E' causata da sostanze chimiche che vengono modificate per assorbimento di un fotone di energia. Non si verifica durante la prima esposizione e c'è una fase di sensibilizzazione dove il sistema immunitario gioca un ruolo centrale.

Le reazioni fototossiche sono di gran lunga più comuni delle reazioni fotoallergiche ed assomigliano ad una esagerata scottatura solare.

Il danno della pelle a livello cellulare induce eritema, edema e stimolazione della produzione di melanina.

Le Rutaceae, Asteraceae e Moraceae sono le famiglie di piante che più probabilmente contengono sostanze chimiche che potenzialmente inducono reazioni fototossiche. Si tratta soprattutto di coumarine ed in particolare di furanocoumarine



Contengono fotosensibilizzanti :

Olio essenziale di bergamotto

Olio essenziale di Angelica

Olio essenziale di Iperico

Olio essenziale di Limone

## AROMATERAPIA E NEUROTRASMISSIONE.

Sebbene gli oli essenziali siano correntemente in uso per trattare vari disordini mentali, gli effetti della loro azione sul sistema nervoso centrale (CNS) non sono stati chiariti e la farmacologia degli oli essenziali e dei loro singoli costituenti chimici rimane largamente da scoprire. Oltre alle proprietà di pura fragranza degli oli essenziali, esistono le modulazioni emozionali e comportamentali, le quali, sebbene ci siano molti effetti considerati efficaci aneddoticamente o empiricamente, sono spesso difficili da esaminare e dimostrare in condizioni scientificamente controllate.

Singoli costituenti raggiungono il sangue, attraversano la barriera emato-encefalica ed entrano nel CNS a seguito di inalazione, applicazione dermica, iniezione intraperitoneale o sottocutanea e somministrazione orale.

L'inalazione di oli essenziali induce degli effetti attraverso il CNS (per es. assorbimento polmonare e trasporto nel flusso sanguigno) oppure attraverso la stimolazione del sistema olfattivo e l'attivazione secondaria di regioni cerebrali.

E' ben noto infatti che l'olfatto influenza il comportamento dei mammiferi e che il sistema olfattivo ha una connessione diretta o indiretta con una varietà di componenti del CNS inclusi l'ipotalamo, l'ippocampo e il sistema limbico.

Di conseguenza, l'inalazione di prodotti odorosi produce una varietà di effetti fisiologici che coinvolgono funzioni cerebrali, endocrine e immunitarie

Si può ipotizzare che l'inalazione di un olio essenziale può essere usato come un intervento terapeutico per correggere **malfunzioni reversibili** del corpo grazie a una diretta attivazione di individuati cammini cerebrali.

Facciamo adesso un rapido excursus sugli effetti neurochimici dei più popolari oli essenziali.

### ANGELICA (Apiaceae)

Studi su animali hanno fornito evidenze del coinvolgimento del CNS in seguito all'utilizzo di olio essenziale di Angelica archangelica, vale a dire una significativa inibizione dell'attività dell'acetilcolinesterasi (in particolare nell'ippocampo) come pure una riduzione dell'amnesia indotta da somministrazione di scopolamina.

### BERGAMOTTO (Rutaceae)



L'olio essenziale di bergamotto viene usato in aromaterapia per minimizzare sintomi dell'ansia indotta da stress, leggeri disordini dell'umore e dolore cronico anche se la base razionale per tali applicazioni è in attesa di delucidazione. Si ipotizza che il fitocomplesso abbia la capacità di interferire con i meccanismi di controllo dei livelli sinaptici di neurotrasmettitori aminoacidici, per es. aumentando il rilascio di glutamato e GABA.

Somministrato a ratti in esperimenti coinvolgenti capacità esplorative all'interno di labirinti dotati di percorsi ansiogeni aperti (open arms) o bui e di percorsi coperti (enclosed arms) e illuminati. L'indipendenza dai percorsi ansiogeni (aperti o bui) aumentava nettamente in seguito a somministrazione di olio essenziale di bergamotto. Effetto simile al Diazepam.

## Citrus Aurantium (Rutaceae)



L'olio essenziale ricavato dalla buccia viene comunemente usato in aromaterapia per il trattamento di insonnia, ansia ed epilessia. Non provoca deficit in attività generale o coordinazione motoria. Sembra sia coinvolto il sistema serotoninergico. Il limonene che è il componente principale dell'olio essenziale non mostra gli effetti dell'olio tal quale. Quindi è in azione un effetto sinergico.

## LAVANDA (Labiaceae)



Ha una varietà di usi terapeutici e cosmetici. Dal punto di vista terapeutico viene usata come sedativo, antidepressivo, anticonvulsivo, antispasmodico, analgesico, antiinfiammatorio e per trattare patologia cerebrovascolari. Contiene più di 100 componenti. Sebbene il meccanismo che sottostà agli effetti fisiologici rimanga poco chiaro, la ricerca sulle conseguenze neurobiologiche si è largamente focalizzata sui sistemi neurotrasmettitori nel CNS e le associate alterazioni comportamentali. Per es. per l'effetto ansiolitico si è rilevata la sua somiglianza con quello indotto dalle benzodiazepine, che aumentano il neurotrasmettitore inibitorio GABA nella amigdala, **senza però avere effetti significativi sulla attività locomotoria.** E' certo di grande interesse il fatto che si stiano accumulando evidenze che l'aromaterapia con olio essenziale di lavanda sia efficace nel ridurre i sintomi comportamentali e psicologici della demenza.

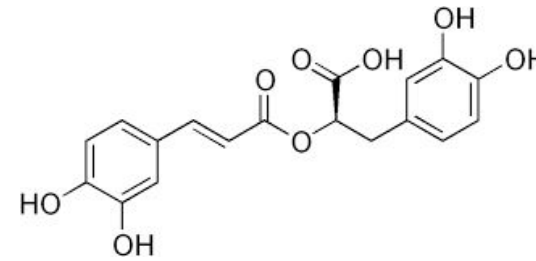
## MELISSA (Lamiaceae)



Usata tradizionalmente nel trattamento di disordini cognitivi, ansia, stress e disturbi del sonno.

Studi hanno determinato proprietà neuroprotettive. In particolare ha dimostrato di essere colinomimetico e di avere una potente attività antiossidante.

L'olio e sue frazioni separate hanno mostrato attività anticolinesterasica e molte frazioni hanno mostrato attività inibitoria più spiccata dell'olio (questa è una novità). Il contenuto della frazione più potente ha mostrato presenza di acido cis- e trans rosmarinico.



L'acido rosmarinico possiede una elevata attività anticolinesterasica e di «spazzino» di radicali liberi.

In aggiunta è stato riportato che l'olio di melissa contiene composti con affinità per il recettore dell'acetilcolina e che l'affinità per il recettore nicotinico è maggiore di quella per il recettore muscarinico

## Aromaterapia per il Trattamento di Sintomi Neuropsichiatrici di Demenza.

Il termine *demenza* fa riferimento a una sindrome clinica caratterizzata da un deterioramento delle funzioni cognitive severo a sufficienza da interferire con le attività giornaliere sociali e di lavoro.

Oltre al declino cognitivo, sono spesso presenti in pazienti con demenza sintomi non cognitivi che influenzano la sfera della personalità, le emozioni, la percezione e il comportamento.

Attualmente i sintomi non cognitivi della demenza vengono classificati come *sintomi neuropsichiatrici* (NPS). I principali sono elencati in tabella.

**TABLE 16.1**  
**Classification of Neuropsychiatric Symptoms**

Symptom Cluster	Type of Symptom
Affective symptoms	Depression/dysphoria, anxiety, exaltation/euphoria, apathy, loss of inhibitions
Psychotic symptoms	Delusions, hallucinations
Behavioral symptoms	Agitation/aggressiveness, inappropriate motor behavior, irritability/lability
Modification in instinctive actions	Sleep disorders, appetite disorders

Source: Dorey, J. M. et al., *CNS Spectr* 13(9): 796–803, 2008.

Lo studio dei sintomi neuropsichiatrici è di grande importanza non solo nei pazienti con demenza, ma anche in soggetti in una fase pre-clinica di demenza, vale a dire con un leggero deterioramento cognitivo. Infatti alcuni di essi possono rappresentare importanti fattori di rischio di conversione da leggeri disturbi a demenza.

Nell'Alzheimer, il tipo più comune di demenza, i sintomi neuropsichiatrici possono sorgere in tempi differenti e dominare il quadro di evoluzione della malattia.

Depressione, apatia ed ansia sono i sintomi neuropsichiatrici più frequenti e importanti negli stadi precoci dell'Alzheimer, mentre irritabilità e manie prevalgono negli stadi moderati e severi.

L'usuale gestione farmacologica dei sintomi neuropsichiatrici associati alla demenza si basa su antipsicotici (Donezopil, Galantamina, Rivastagmina). Tuttavia, questa classe di farmaci presenta un rischio elevato di importanti effetti collaterali, come sintomi extrapiramidali, un incedere anormale, sedazione, rischio aumentato di cadute e fratture, aumentata incidenza di deliri, eventi cerebrovascolari avversi e morte.

A causa quindi degli importanti effetti collaterali della terapia farmacologica, sono state proposte strategie non farmacologiche per i pazienti affetti da demenza: tra questi, l'aromaterapia potrebbe risultare un trattamento potenzialmente efficace.

L'aromaterapia non si basa sulla ingestione di vari prodotti derivati dalle piante, ma piuttosto sull'inalare il loro aroma, che si sostiene abbia un range di proprietà terapeutiche e psicologiche.

Molti studi sono stati condotti per chiarire il meccanismo di azione, per es. della lavanda, nei tessuti neuronali.

Il meccanismo di azione proposto della somministrazione respiratoria tipica dell'aromaterapia inizia con l'assorbimento di molecole odorose volatili attraverso la mucosa nasale.



Le molecole odorose sono quindi trasformate in segnali chimici che viaggiano verso il bulbo olfattivo e quindi verso altre parti del sistema limbico del cervello della corteccia cerebrale e del centro sensoriale olfattivo alla base del cervello, interagendo con la struttura complessa neuropsicologica per produrre caratteristici effetti fisiologici e psicologici su tessuti target.

Il possibile effetto dell'aromaterapia è collegato alla capacità degli oli essenziali di migliorare la neurotrasmissione nei neuroni colinergici, sia inibendo la acetilcolinesterasi che aumentando l'acetilcolina, che sono implicate nel declino cognitivo caratteristico della demenza.

Pochi oli essenziali sono stati studiati su pazienti con sintomi neuropsichiatrici collegati alla demenza, vediamo alcuni.

La lavanda è l'olio essenziale più studiato nei pazienti con demenza.

Si sono acquisite prove che la lavanda inibisce la reazione infiammatoria indotta da lipopolisaccaridi (componenti della membrana cellulare di batteri gram-negativi), è antiossidante ed un inibitore colinergico relativamente debole.

Questi risultati indicano che molti target rilevanti per il trattamento dell'Alzheimer, come le attività anticolinergiche, neuroprotettive e antiossidanti possono contemporaneamente essere trovati nella lavanda.

Comportamenti agitati e aggressivi, irritabilità e disturbi notturni sono stati i sintomi neuropsichiatrici con il più elevato grado di miglioramento

*Melissa officinalis* è un'altra essenza frequentemente usata in aromaterapia su pazienti affetti da demenza.

Percentuali di miglioramento da comportamenti agitati superiori a quelli ottenuti in gruppi di controllo (effetto placebo) sono state riportate in letteratura oltre a significativi miglioramenti in qualità della vita.

Purtroppo però questi risultati spesso non sono confermati da altri studi in cui l'aromaterapia non è risultata superiore all'effetto placebo.

Altre essenze (rosmarino, camomilla, maggiorana, timo) sono state sperimentate da sole o in associazione nell'aromaterapia su pazienti con demenza, con miglioramento delle funzioni cognitive e aumentata indipendenza nelle attività della vita giornaliera.

Si può certamente concludere che esiste sufficiente evidenza per raccomandare l'aromaterapia per trattamenti a breve termine di alcuni disordini neurologici. Tuttavia sono necessari studi osservazionali ed esperimenti a lungo termine per stabilire la sicurezza di utilizzo per tempi prolungati così come l'efficacia globale nel contesto del trattamento e della gestione di pazienti complessi affetti da demenza.

A proposito di sicurezza non bisogna dimenticare che gli oli essenziali contengono sostanze chimiche di elevata bioattività e che molti richiedono diluizione prima di essere usati.

I requisiti di sicurezza sono correlati all'uso inappropriato, all'uso eccessivo, alla ingestione accidentale e alle reazioni della pelle in soggetti predisposti alle allergie.

La purezza e i costituenti chimici possono variare secondo il clima, il terreno, le tecniche di processamento e di conservazione degli oli essenziali e certi oli come quelli ottenuti dalla *menta pulegium* e dalla salvia dovrebbero essere usati con cautela a causa di potenziali effetti tossici.

Gli studi in questo settore sono ancora limitati e di non facile interpretazione. Infatti ci sono dei problemi collegati alla presenza di elementi di confusione nei vari aspetti dei protocolli di intervento. Inoltre i metodi di somministrazione in aromaterapia variano significativamente negli studi riportati e gli oli essenziali usati variano da studio a studio.

Problemi legati a effetti di confusione possono sorgere dall'uso concomitante di farmaci.

Infine un ultimo problema è rappresentato dal livello di addestramento del personale che realizza il trattamento.