

# Inositolo, anti-ossidanti e apparato riproduttivo maschile

Guido Marelli  
Ospedale San Raffaele, Milano

Ferrara, 11 marzo 2011

# INOSITOLO

- ✓ L'inositolo è uno zucchero ciclico, un poliolo carbociclico, la cui forma più comune in natura è il myo-inositolo (cis-1,2,3,5-trans4, 6-cicloecosanolo). Sono descritti altri otto isomeri

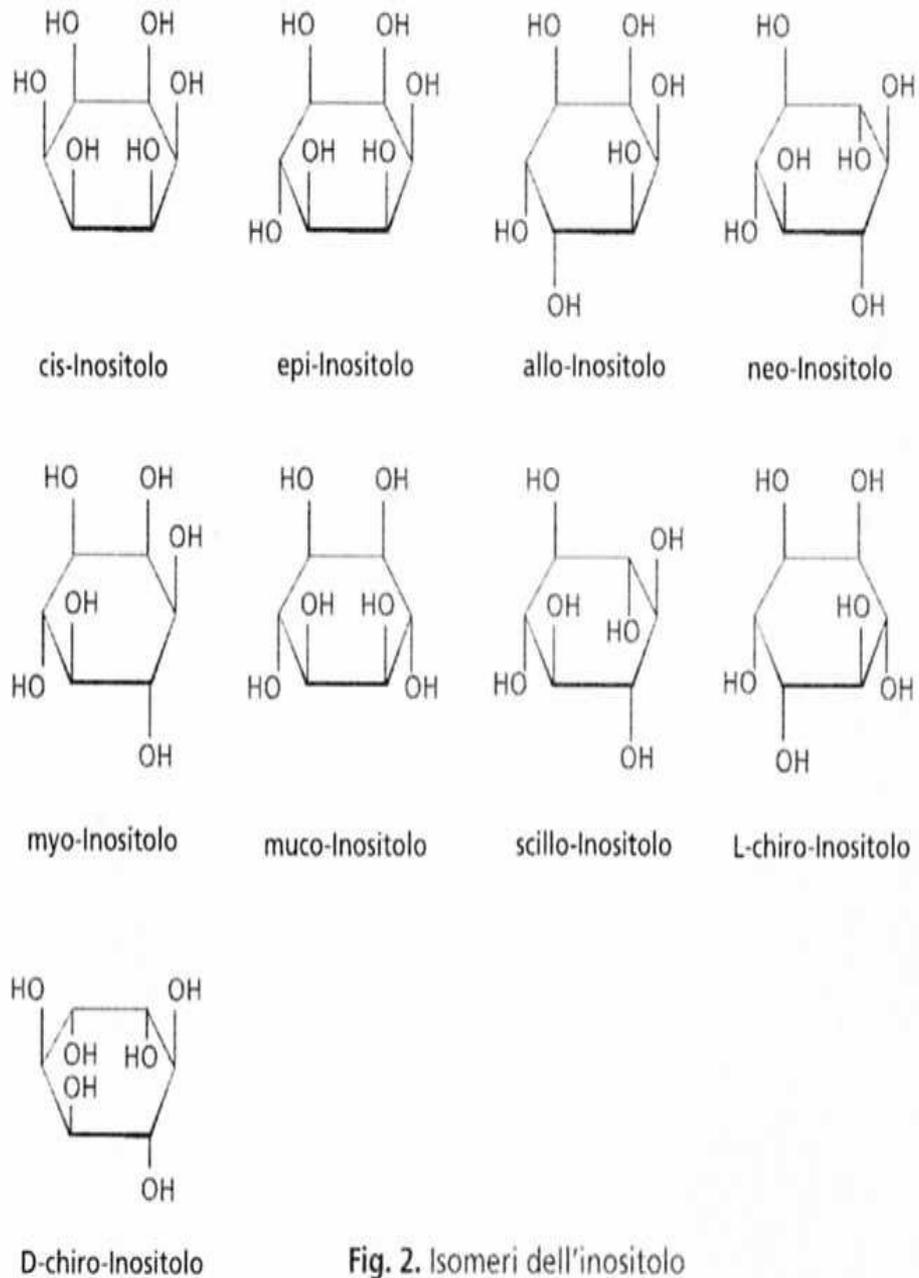


Fig. 2. Isomeri dell'inositolo

- L'inositolo gioca un ruolo importante nei secondi messaggeri delle cellule eucariote, come inositolo fosfato, fosfatidilinositolo e fosfatidilinositolo fosfato
- Gli studi tendono a dimostrare un suo ruolo cruciale non solo nelle cellule somatiche ma anche in quelle germinali

# MYO-INOSITOLO

- ✓ E' coinvolto nelle vie di segnalazione intracellulari calcio-dipendenti. A livello ovarico queste vie di segnalazione sono coinvolte nel rilascio di granuli corticali, nel blocco della polispermia, nel completamento della meiosi e nell'attivare lo sviluppo embrionale

*Saunders 2002*

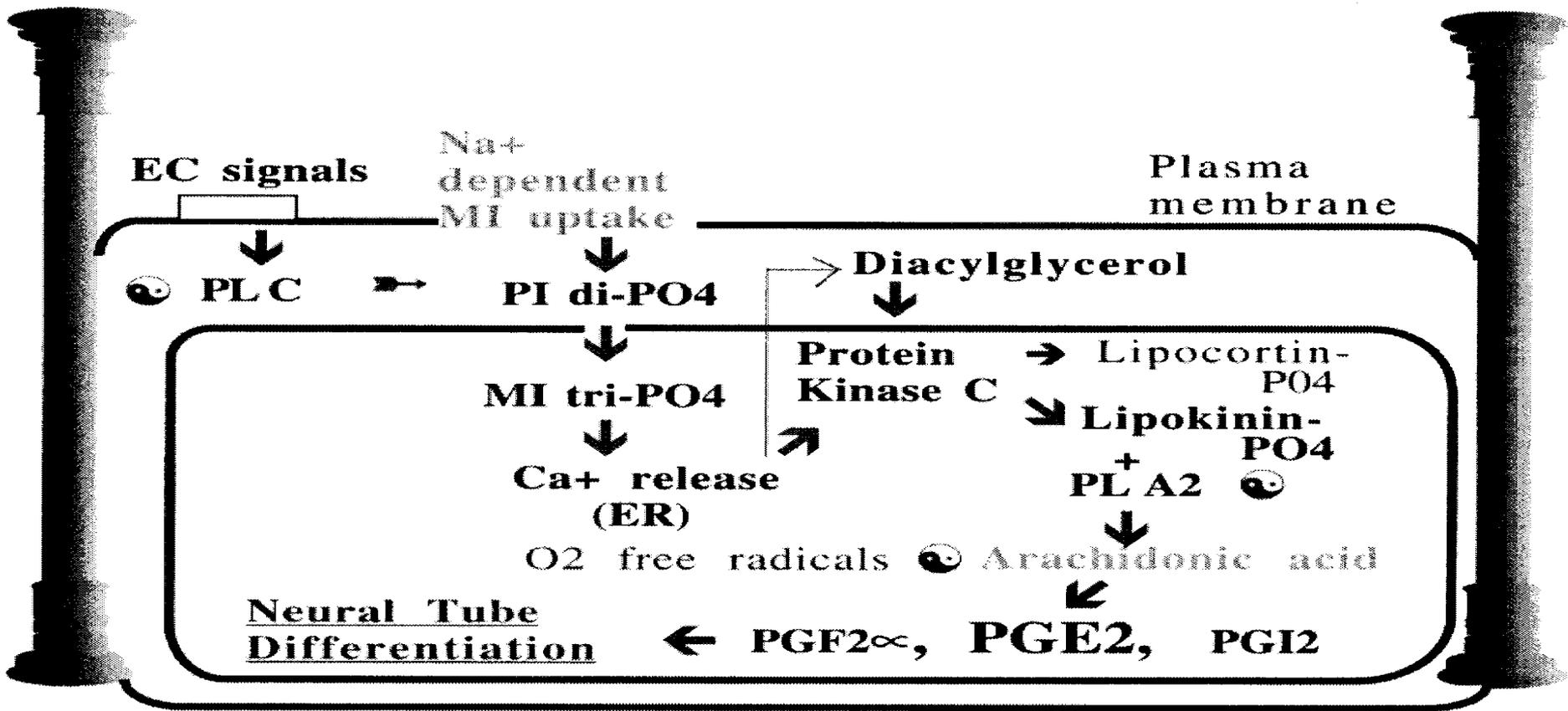
TERATOLOGY 57:79-84 (1998)

# Dietary Myo-Inositol Therapy in Hyperglycemia-Induced Embryopathy

MEENA KHANDELWAL,<sup>1</sup> E. ALBERT REECE,<sup>1\*</sup> YING KING WU,<sup>1</sup> AND MICHAEL BORENSTEIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Departments of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences, Temple University School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania 19140*

<sup>2</sup>*Temple University School of Pharmacy, Philadelphia, Pennsylvania 19140*



**Fig. 1.** Chemical basis of diabetic embryopathy. Organ growth requires signal transduction, which results in phosphatidylinositol (PI) turnover as shown. The PIs are formed from the active cellular uptake of myo-inositol by the plasma membrane. They are necessary in the cascade of events leading to the formation of arachidonic acid and

eventually prostaglandins, which are important regulators of neural tube differentiation. EC, extracellular; PL, phospholipase; MI, myo-inositol; PO<sub>4</sub>, phosphate; ER, endoplasmic reticulum; PG, prostaglandins; Na<sup>+</sup>, sodium; Ca<sup>+</sup>, calcium; O<sub>2</sub>, oxygen; ⊖, inhibition.

# INOSITOLO

- ✓ E' classificato come un componente del complesso vitaminico B anche se propriamente non è una vitamina essendo possibile una sua sintesi da parte del corpo umano (in riferimento al complesso B viene indicato come vitamina B8)

- Questo poliolo carbociclico (esaidrossi-cicloesano) è molto diffuso negli organismi animali (in forma libera, come parte polare del fosfatidilinositolo o in subordine come fosfoinositidi) e in quelli vegetali sotto forma di acido fitico (esterificato con sei molecole di acido fosforico)

# Inositolo di origine vegetale

- E' molto comune nelle piante ad uso alimentare sotto forma di fitati e si calcola che rappresenti il 75% del fosforo totale presente nei semi di cereali

# Fosfatidilinositolo

- Il fosfatidilinositolo è una molecola nella quale l'inositolo è legato a gruppi fosfato
- E' la principale forma di inositolo che si trova nelle cellule dei mammiferi
- Rappresenta il 2-12% dei fosfolipidi totali nei tessuti dei mammiferi

# Inositolo e apparato riproduttivo maschile

- Nei tessuti sembrerebbe esistere una correlazione inversa tra capacità di sintesi e concentrazione di inositolo. In particolare nei testicoli vi è una scarsa concentrazione ed una elevata sintesi.
- Nell'apparato genitale maschile la capacità di sintesi è in ordine decrescente per testicoli, epididimo, vescicole seminali mentre le concentrazioni sono inversamente proporzionali

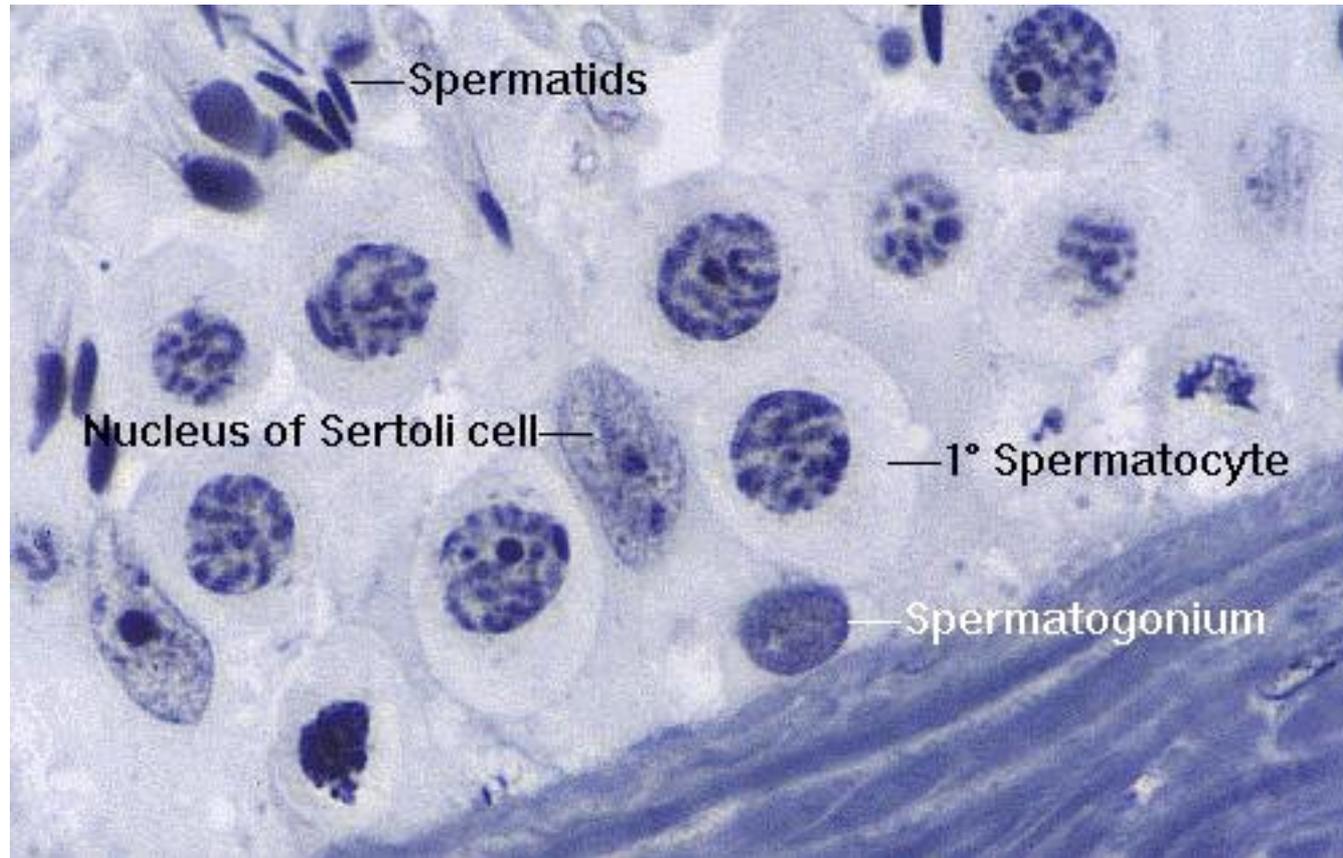
- Già negli anni cinquanta e sessanta si era notata l'alta concentrazione di inositolo nell'apparato riproduttivo maschile
- Il liquido seminale dei mammiferi è una delle fonti più ricche di inositolo libero con concentrazioni maggiori a quelle riscontrate nel sangue



Eisenberg e Bolden (1964) per primi ipotizzarono che l'inositolo possa giocare un ruolo nella maturazione degli spermatozoi nel momento della loro migrazione dall'epididimo. La somministrazione della trietilenmelamina nei topi come anche il criptorchidismo chirurgico sperimentale determina una diminuita sintesi di inositolo e una concomitante scomparsa di spermatidi e spermatozoi

Robinson e Fritz (1979) hanno ipotizzato che il myo-inositolo possa essere uno dei componenti sintetizzati dalle cellule del Sertoli allo scopo di creare quello speciale microambiente nel tubulo seminifero indispensabile per lo sviluppo della cellula germinale

- In relazione alla concentrazione di enzimi atti alla sintesi di inositolo si ritiene che le cellule del Sertoli siano le principali responsabili della produzione intra-testicolare
- Alti livelli di sintetasi e fosfatasi sono presenti nelle cellule epididimarie, capaci di sintesi di inositolo glucosio 6-fosfato dipendente





# Disrupted Sperm Function and Fertilin $\beta$ Processing in Mice Deficient in the Inositol Polyphosphate 5-Phosphatase *Inpp5b*

Elina Hellsten,<sup>\*,1</sup> Janice P. Evans,<sup>†</sup> David J. Bernard,<sup>\*</sup> Pasi A. Jänne,<sup>‡</sup> and Robert L. Nussbaum<sup>\*,2</sup>

<sup>\*</sup>Genetic Diseases Research Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892; <sup>†</sup>Division of Reproductive Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Johns Hopkins University, Bloomberg School of Public Health, Baltimore, Maryland 21205; and <sup>‡</sup>Lowe Center for Thoracic Oncology/Dana-Farber Cancer Institute, Boston, Massachusetts 02115

*Inpp5b* is an ubiquitously expressed type II inositol polyphosphate 5-phosphatase. We have disrupted the *Inpp5b* gene in mice and found that homozygous mutant males are infertile. Here we examine the causes for the infertility in detail. We demonstrate that sperm from *Inpp5b*<sup>-/-</sup> males have reduced motility and reduced ability to fertilize eggs, although capacitation and acrosome exocytosis appear to be normal. In addition, fertilin  $\beta$ , a sperm surface protein involved in sperm-egg membrane interactions that is normally proteolytically processed during sperm transit through the epididymis, showed reduced levels of processing in the *Inpp5b*<sup>-/-</sup> animals. *Inpp5b* was expressed in the Sertoli cells and epididymis and at low levels in the developing germ cells; however, mice lacking *Inpp5b* in spermatids and not in other cell types generated by conditional gene targeting, were fully fertile. The abnormalities in mutant sperm function and maturation appear to arise from defects in the functioning of Sertoli and epididymal epithelial cells. Our results directly demonstrate a previously unknown role for phosphoinositides in normal sperm maturation beyond their previously characterized involvement in the acrosome reaction. *Inpp5b*<sup>-/-</sup> mice provide an excellent model to study the role of Sertoli and epididymal epithelial cells in the differentiation and maturation of sperm. © 2001 Elsevier Science

**Key Words:** phosphoinositide; inositol polyphosphate 5-phosphatase; fertilization; sperm; epididymis; fertilin  $\beta$ .

# PGAP1 Knock-out Mice Show Otocephaly and Male Infertility\*

Received for publication, July 9, 2007, and in revised form, August 15, 2007. Published, JBC Papers in Press, August 20, 2007, DOI 10.1074/jbc.M705601200

Yasutaka Ueda<sup>‡</sup>, Ryo Yamaguchi<sup>§</sup>, Masahito Ikawa<sup>§</sup>, Masaru Okabe<sup>§</sup>, Eiichi Morii<sup>¶</sup>, Yusuke Maeda<sup>‡</sup>, and Taroh Kinoshita<sup>†1</sup>

From the <sup>‡</sup>Department of Immunoregulation and the <sup>§</sup>Genome Information Research Center, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, 3-1 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871 and the <sup>¶</sup>Department of Pathology, Osaka University Medical School, Yamada-oka 2-2, Suita, Osaka 565-0871, Japan

A palmitate linked to the inositol in glycosylphosphatidylinositol (GPI) is removed in the endoplasmic reticulum immediately after the conjugation of GPI with proteins in most cells. Previously, we identified PGAP1 (post GPI attachment to proteins 1) as a GPI inositoldeacylase that removes the palmitate from inositol. A defect in PGAP1 caused a delay in the transport of GPI-anchored proteins (GPI-APs) from the endoplasmic reticulum to the cell surface in Chinese hamster ovary cells, although the cell-surface expression of GPI-APs in the steady state was normal. Nevertheless, in most cells, GPI-APs undergo deacylation. To elucidate the biological significance of PGAP1 *in vivo*, we established PGAP1 knock-out mice. Most PGAP1 knock-out mice showed otocephaly, a developmental defect, and died right after birth. However, some survived with growth retardation. Male knock-out mice showed severely reduced fertility despite the capability of ejaculation. Their spermatozoa were normal in number, motility, and ability to ascend the uterus, but were unable to go into the oviduct. *In vitro*, PGAP1-deficient spermatozoa showed weak attachment to the zona pellucida and a severely diminished rate of fertilization. Therefore, an extra acyl chain in GPI anchors caused severe deleterious effects to development and sperm function.

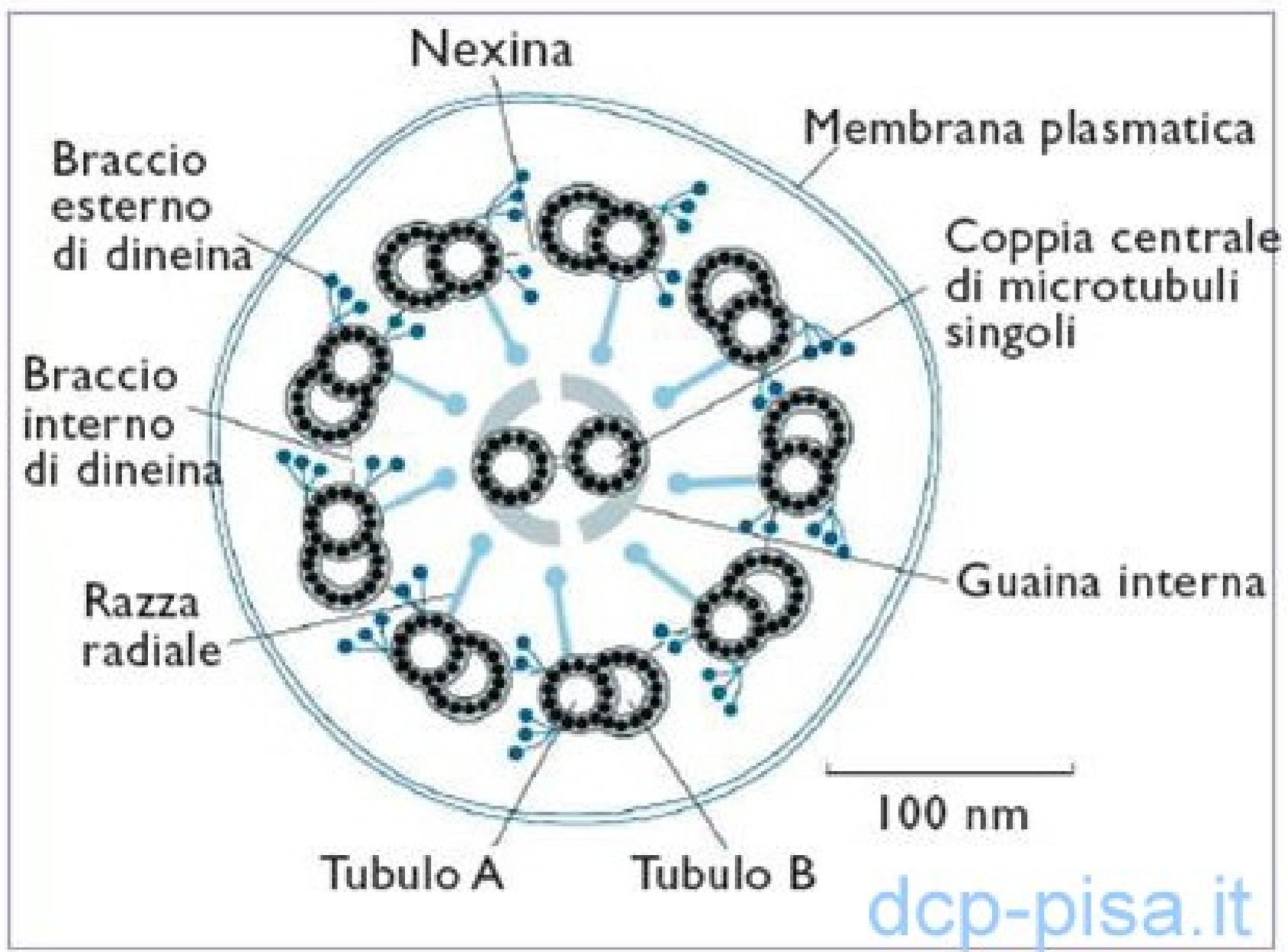
Many eukaryotic cell-surface proteins with various functions are anchored to the membrane via glycosylphosphatidylinositol (GPI)<sup>2</sup> (1–3). The structure of GPI is well conserved among eukaryotes. More than 150 GPI-anchored proteins (GPI-APs)

urokinase-type plasminogen activator receptor, folate receptor, and others) (3, 4). The GPI anchor is synthesized in the endoplasmic reticulum (ER), consisting of ethanolamine phosphate, three mannoses, glucosamine, and phosphatidylinositol (3, 5, 6), and is transferred to proteins. Phosphatidylinositol glycan A is the enzyme involved in the early step of GPI synthesis, and its disruption in mice causes complete loss of GPI synthesis resulting in embryonic lethality with defective gastrulation and neural development indicating the importance of GPI-APs for normal development (7).

At an early step, the inositol ring of GPI is acylated with a palmitoyl chain by phosphatidylinositol glycan W (8). This inositol acylation is indispensable for the attachment of ethanolamine phosphate to the third mannose of GPI intermediates, and phosphatidylinositol glycan W-defective mutant cells express very low levels of GPI-APs (8). Soon after the attachment of mature GPI to proteins, the inositol is usually deacylated in the ER (9). This process is necessary for efficient transport of GPI-APs to the plasma membrane by vesicular trafficking (10). GPI-APs accumulate in specific microdomains in the plasma membrane called lipid rafts, which are enriched in sphingolipids and cholesterol (11–13). GPI-APs are incorporated into lipid rafts in the Golgi and transported to the cell surface (11). Rafts are the portals for endocytosis and the platforms for signal transduction and mediate apical sorting of GPI-APs (12–15). Previously, we established mutant cells based on resistance to bacterial PI-PLC, which cleaves GPI-APs unless palmitoylated on the inositol (16–18), and identified PGAP1 as the inositoldeacylase (10). A

# MYO-INOSITOLO E TUBULINA

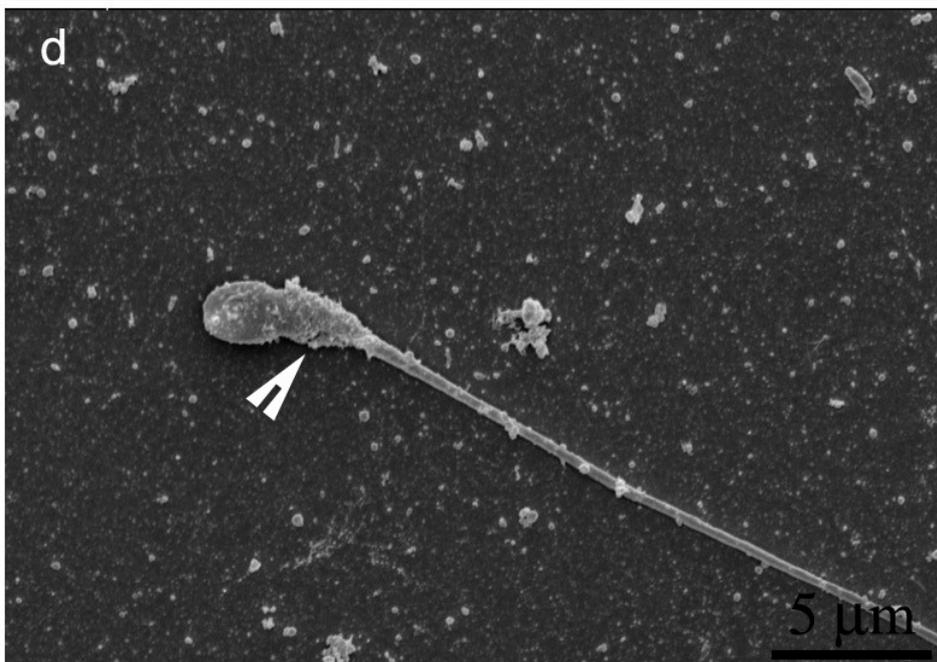
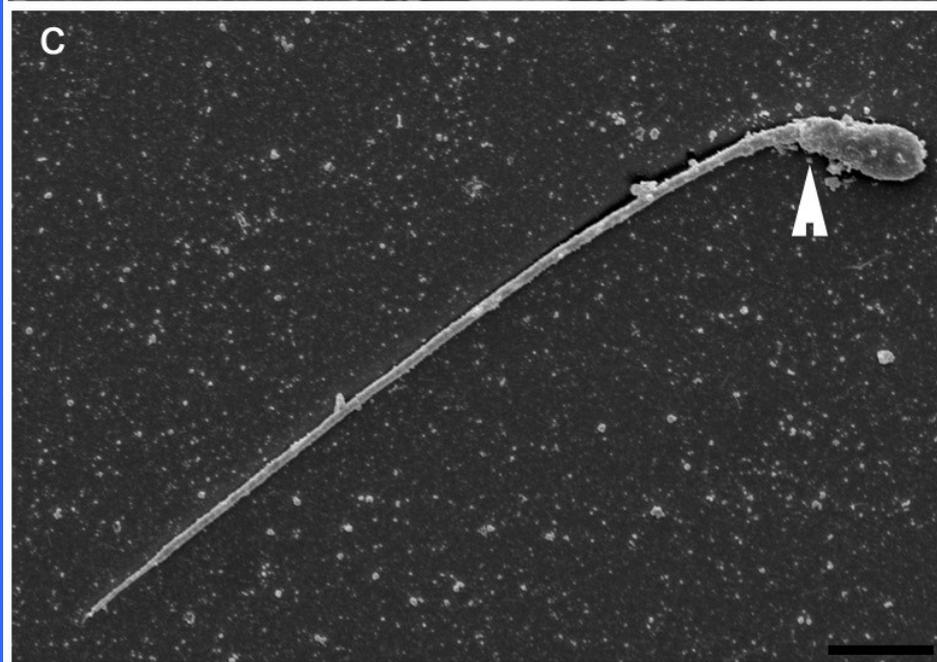
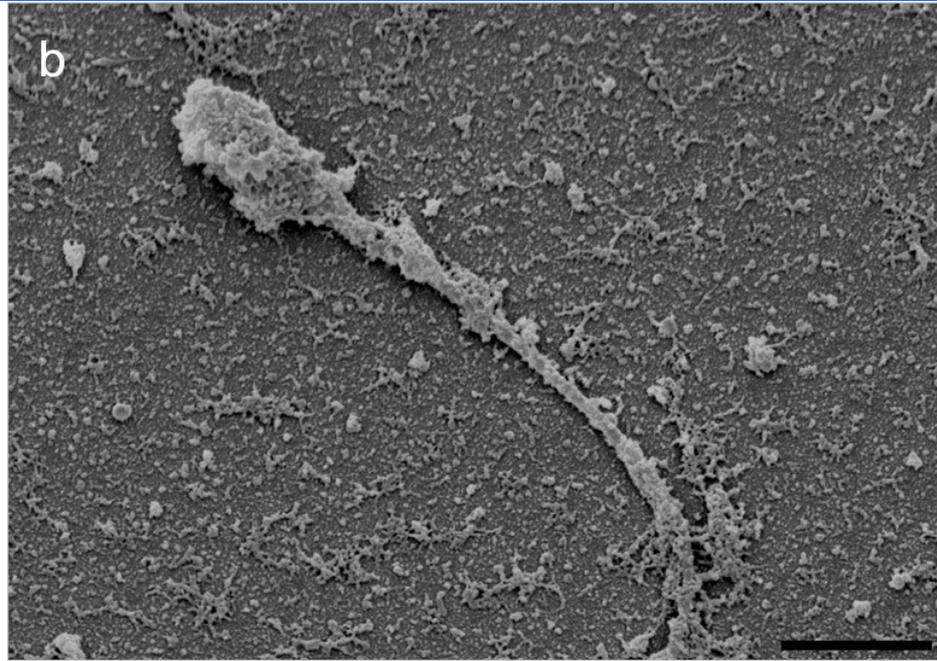
- ✓ La struttura dell'assonema, saldamente conservata durante la filogenesi, è caratterizzata da nove coppie esterne di microtubuli che circondano una coppia interna composta da dimeri di tubulina, determinando la cosiddetta configurazione 9+2. Da ciascuna coppia di microtubuli esterni si proiettano, all'interno e all'esterno delle molecole di dineina che interagendo con le coppie adiacenti per produrre un avvolgimento del cilio
- ✓ Il myo-inositolo è in grado di stabilizzare le molecole di tubulina



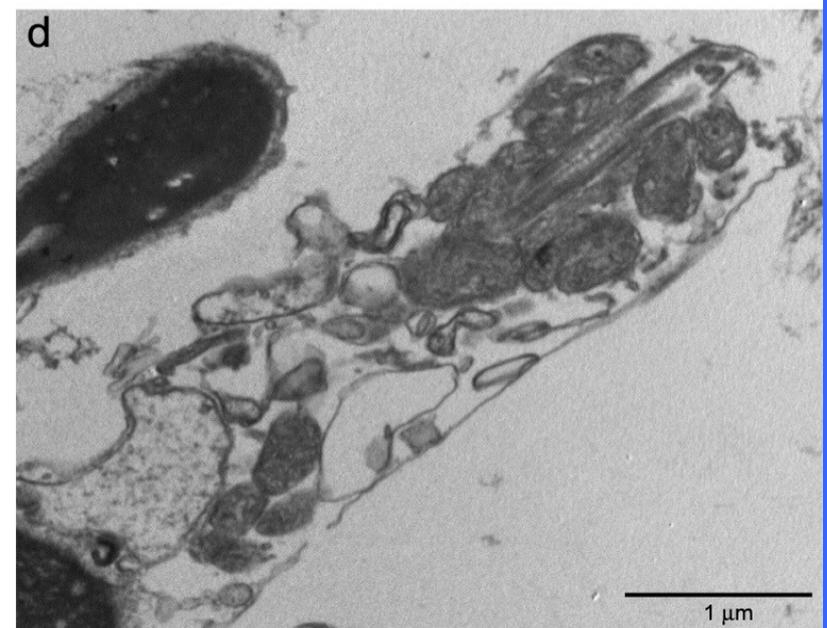
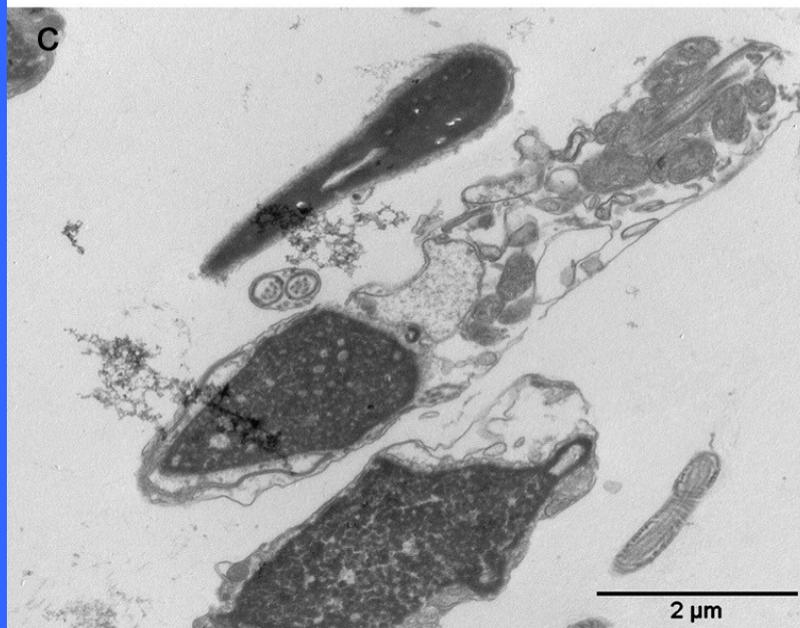
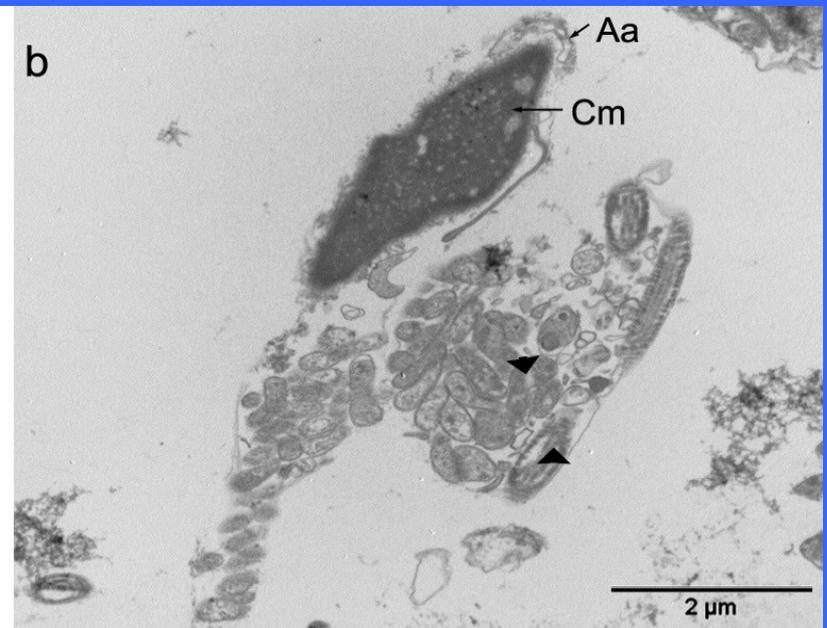
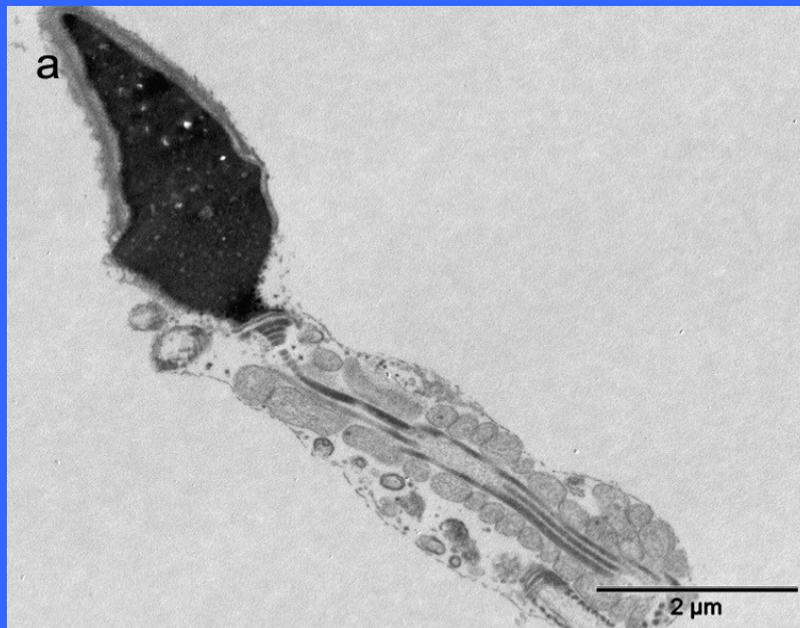
# Inositol activity in oligoasthenoteratospermia – An in vitro study

Colone M, Marelli G, Unfer V, Bozzuto G,  
Molinari A, Stringaro A

European Review for Medical and  
Pharmacological Sciences 2010, 14(10)



Per gentile concessione della Dott.ssa A. Stringaro (I.S.S.)



Per gentile concessione della Dott.ssa A. Stringaro (I.S.S.)

Circa il 30-35% delle  
oligoastenoteratospermie rilevate in  
soggetti appartenenti a coppie infertili  
sono a tutt'oggi ritenute idiopatiche

*Bonanomi 2002*

*Cavallini 2004*

# Identification of proteomic differences in asthenozoospermic sperm samples

---

Juan Martínez-Heredia<sup>1,2,3</sup>, Sara de Mateo<sup>1,2,3</sup>, José M. Vidal-Taboada<sup>1,2,3</sup>,  
José Luis Ballecà<sup>4</sup> and Rafael Oliva<sup>1,2,3,5</sup>

<sup>1</sup>Human Genetics Research Group, Genetics Unit, Faculty of Medicine, University of Barcelona, Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain;

<sup>2</sup>IDIBAPS, Hospital Clínic i Provincial, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain; <sup>3</sup>Biochemistry and Genetics Service, Hospital Clínic i Provincial, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain; <sup>4</sup>Institut Clínic de Ginecologia, Obstetricia i Neonatologia, Hospital Clínic i Provincial, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain

<sup>5</sup>Correspondence address. E-mail: roliva@ub.edu

**BACKGROUND:** Asthenozoospermia is one of the most common findings present in infertile males, but its aetiology remains unknown in most cases. Present proteomic tools now offer the opportunity to identify proteins which are differentially expressed in asthenozoospermic semen samples and potentially involved in infertility. **METHODS:** We compared the expression of 101 sperm protein spots in 20 asthenozoospermic samples to that of 10 semen donor controls using two-dimensional proteomic analysis. **RESULTS:** Seventeen protein spots have been identified at different amounts in the asthenozoospermic samples compared with controls. These are cytoskeletal actin-B, annexin-A5, cytochrome C oxidase-6B, histone H2A, prolactin-inducible protein and precursor, calcium binding protein-S100A9 (2 spots), clusterin precursor, dihydrolipoamide dehydrogenase precursor, fumarate hydratase precursor, heat shock protein-HSPA2, inositol-1 monophosphatase, 3-mercapto-pyruvate sulfurtransferase/dienoyl-CoA isomerase precursor, proteasome subunit-PSMB3, semenogelin 1 precursor and testis expressed sequence 12. The detected amount of these proteins enabled the grouping of asthenozoospermic sperm samples in an unsupervised clustering analysis. **CONCLUSIONS:** We have identified several proteins present at different amount in asthenozoospermic sperm samples. These proteins could be candidates towards the development of diagnostic markers, and open up the opportunity to gain further insight into the pathogenic mechanisms involved in asthenozoospermia.

RESEARCH

Open Access

# Identification of calcium-binding proteins associated with the human sperm plasma membrane

Soren Naaby-Hansen<sup>1\*</sup>, Alan Diekman<sup>2</sup>, Jagathpala Shetty<sup>3</sup>, Charles J Flickinger<sup>3</sup>, Anne Westbrook<sup>4</sup>, John C Herr<sup>3\*</sup>

## Abstract

**Background:** The precise composition of the human sperm plasma membrane, the molecular interactions that define domain specific functions, and the regulation of membrane associated proteins during the capacitation process, still remain to be fully understood. Here, we investigated the repertoire of calcium-regulated proteins associated with the human sperm plasma membrane.

**Methods:** Surface specific radioiodination was combined with two-dimensional gel electrophoresis, a <sup>45</sup>Ca-overlay assay, computer assisted image analysis and mass spectrometry to identify calcium-binding proteins exposed on the human sperm surface.

**Results:** Nine acidic <sup>45</sup>Ca-binding sperm proteins were excised from stained preparative 2D gels and identified by mass spectrometry. Five of the calcium binding proteins; HSPA2 (HSP70-1), HSPA5 (Bip), HYOU1 (ORP150), serum amyloid P-component (SAP) and protein kinase C substrate 80K-H (80K-H) were found to be accessible to Iodo-Bead catalyzed <sup>125</sup>I-labelling on the surface of intact human sperm. Agglutination and immunofluorescence analysis confirmed that SAP is situated on the plasma membrane of intact, motile sperm as well as permeabilized cells. Western blot analysis showed increased phosphorylation of human sperm 80K-H protein following in vitro capacitation. This is the first demonstration of the 80K-H protein in a mammalian sperm.

**Conclusion:** The presence of SAP on the surface of mature sperm implies that SAP has a physiological role in reproduction, which is thought to be in the removal of spermatozoa from the female genital tract via phagocytosis. Since 80K-H is a Ca<sup>2+</sup>-sensor recently implicated in the regulation of both inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and transient receptor potential (TRP) cation channel activities, its detection in sperm represents the first direct signaling link between PKC and store-operated calcium channels identified in human sperm.

Sono proposti in letteratura numerosi trattamenti empirici e/o ex adiuvantibus:

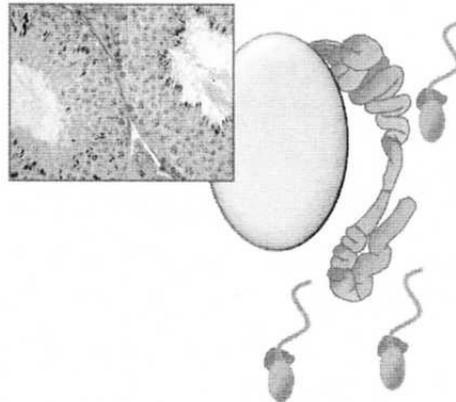
- ✓ FSH (*Foresta 2002*)
- ✓ Solfato di zinco e folati (*Wong 2002, Ebisch 2007*)
- ✓ Levo-carnitina ( *Vicari 2001, Lenzi 2003*)
- ✓ Tamoxifene e testosterone (*Adamopoulos 2003*)

STRESS OSSIDATIVO (OS)

SOSTANZE OSSIDANTI (ROS)

*Agarwal 2004, 2005*

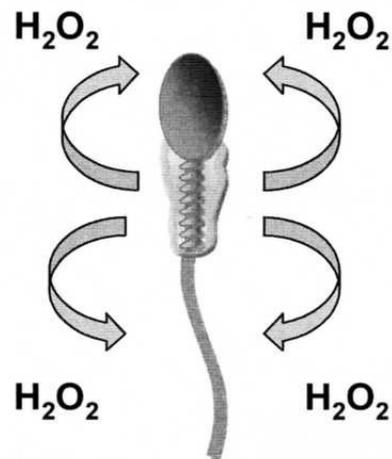
## Step 1 – Disordered spermiogenesis



Release of defective sperm suffering from:

- Retention of excess residual cytoplasm
- Disrupted HSP2A content
- High nucleohistone content
- Poor protamination
- High polyunsaturated fatty acid content
- Poor functionality including zona binding

## Step 2 – Oxidative attack



Defective cells have a tendency to default to an apoptotic pathway characterised by activation of ROS generation by the mitochondria.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generated by the mitochondria diffuses to nucleus where it attacks the vulnerable, poorly protaminated DNA, leading to base adduct formation and, ultimately, DNA fragmentation

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generated by the mitochondria also attacks the unsaturated fatty acids in the plasma membrane leading to lipid peroxidation and motility loss

# ROS E ASTENOSPERMIA

- ✓ Danno esercitato mediante ossidazione delle membrane plasmatiche
- ✓ Alterazione della struttura assonemica

*Saleh 2002*

# ROS E ASTENOSPERMIA

- ✓ Alti livelli di mediatori apoptotici (caspasi) in spermatozoi con motilità ridotta

*Weng 2002*

# ROS E TERATOSPERMIA

- ✓ Ridondante residuo citoplasmatico
- ✓ Aumento dei ROS endogeni (glucosio-6-fosfato deidrogenasi dipendente)
- ✓ Danno del DNA spermatico

*Aitken 1999, Agarwal 2005*

# FRAMMENTAZIONE DEL DNA E PROGNOSI RIPRODUTTIVA

- ✓ Danno basso quando inferiore al 15%
- ✓ Danno intermedio tra il 15 e il 30%
- ✓ Danno elevato oltre il 30%

*Evenson 2002*

STUDIO DELLA  
FRAMMENTAZIONE  
CROMATINICA MEDIANTE  
TECNICA TUNEL  
(terminal deoxynucleotidyl  
transferase-mediated deoxyuridine  
triphosphate nick end labeling)

*Greco 2005, Moskovtsev 2008*

Molte forme di danno spermatico del DNA sono determinate dai ROS attraverso reazioni crociate cromatiniche, delezioni cromosomiche, rotture e ossidazioni di basi. Inoltre i ROS sono importanti mediatori apoptotici inducendo il citocromo c e le caspasi 3 e 9 che a loro volta aumentano le rotture delle catene singole e doppie di DNA

# Correlazione tra varicocele in soggetti infertili e indice di frammentazione del DNA spermatico (DFI)

*Saleh 2003*

# SOSTANZE AD AZIONE ANTIOSSIDANTE

Numerosi studi, anche randomizzati, pongono l'accento sulla possibile efficacia sia nel migliorare alcuni parametri seminali, sia nell'uso complementare in procedure di riproduzione assistita

Agarwal 2005, Greco 2005, Silver 2005, Ebisch 2007, Menezo 2007, Tremellen 2007, Mooskovtsev 2008

Difficile destreggiarsi in una congerie di molecole, differenti dosaggi ed associazioni tra diverse sostanze:

- ✓ Solfato di zinco e folati
- ✓ Astaxanthin
- ✓ Acetyl-carnitina
- ✓ Estratti di corteccia di Pinus maritima
- ✓ Vitamine C ed E a svariati dosaggi
- ✓ Glutazione
- ✓ Selenio
- ✓ Resveratrolo
- ✓ Ubidecarenone
- ✓ Coenzima Q10
- ✓ Estratti di licopene, aglio
- ✓ Inositolo

- Esistono in commercio integratori che contengono inositolo, a dosaggi variabili, eventualmente associato ad antiossidanti
- Nella nostra esperienza clinica l'associazione inositolo/antiossidanti è certamente utile nel migliorare alcuni parametri seminologici e l'outcome in procedure di riproduzione medicalmente assistita

## Integratori alimentari in ostetricia e ginecologia. Alcune riflessioni metodologiche

G. MARELLI

Integratori alimentari sono definiti dal Dizionario della Lingua Italiana del Devoto Oli come "sostanze destinate a colmare carenze dell'alimentazione". Termine derivato da integrare: "rendere completo dal punto di vista sia quantitativo che qualitativo, per lo più mediante l'aggiunta di opportuni elementi complementari".

La storia dell'umanità e della medicina sono ricche di scoperte dovute all'intuizione di uomini capaci di osservare e correlare gli accadimenti. I navigatori inglesi settecenteschi seppero combattere lo scorbuto che decimava i loro equipaggi imbarcando scorte di limoni. Non è forse questo un esempio ante litteram sull'importanza di sostanze come le vitamine che il nostro organismo non è in grado di sintetizzare? James Cook seppe "integrare" la misera alimentazione dei propri marinai "curando" così una malattia la cui patogenesi sarebbe stata svelata molti anni dopo.

Integratori alimentari, complessi polivitaminici, fitomedicine, probiotici ed in generale tutte quelle sostanze riconosciute, a torto o a ragione, come "naturali" hanno da tempo attirato l'attenzione dell'industria ed i fatturati dimostrano che il mercato di questi prodotti è in continuo aumento. Le più svariate tipologie di prodotti per le indicazioni più diverse si avvalgono spesso, nella durissima lotta di marketing, di richiami a "naturale" come equipollente di "salutare". Si pensi soltanto alla notevole varietà e disponibilità di prodotti per la gravidanza laddove è fortissimo nelle utenti da una parte il desiderio di ottimizzare l'alimentazione nell'interesse del nascituro e dall'altro di non usare sostanze che possano al contempo arrecare danno (2-5). Ma la diffusione di tutti questi prodotti è commisurata ad una effettiva utilità, efficacia, inno-

cuità(6-7-8)? Non è semplice rispondere a questa domanda, districandosi in una letteratura amplissima talvolta ineccepibile e talvolta lacunosa in quanto la ricerca scientifica indipendente basata sull'evidenza non sempre ha tenuto il passo con la reale diffusione di sostanze e prodotti la cui commercializzazione non ha gli stessi vincoli richiesti per i farmaci.

Per quanto riguarda gli integratori alimentari in Italia esiste una normativa specifica sin dal 1992 cui si è aggiunta una direttiva comunitaria del 2002 (2002/46/CE) recepita anche in sede nazionale nel 2004. In particolare l'art. 2 così definisce gli integratori: "i prodotti alimentari destinati ad integrare la comune dieta e che costituiscono una fonte concentrata di sostanze nutritive, quali le vitamine e i minerali, o di altre sostanze aventi un effetto nutritivo o fisiologico, in particolare ma non in via esclusiva aminoacidi, acidi grassi essenziali, fibre ed estratti di origine vegetale, sia monocomposti che pluricomposti, in forme preosate". È da notare che ciò ha permesso di meglio definire la categoria dei prodotti a base di sostanze vegetali che in passato finivano nel mare magnum dei prodotti "erboristici"(1). A ciò si aggiunga la disciplina del decreto 219/2006 che permette di registrare con procedure semplificate medicinali di origine vegetale di uso tradizionale (Capo III, art.21) (3). Se da una parte il Ministero della Salute richiede per gli integratori una conformità delle etichettature dall'altra viene praticamente demandato alla aziende produttrici la effettiva qualità del contenuto (4). Facciamo un esempio per meglio capire quanto non sia proprio facilissimo destreggiarsi. Ipotizziamo che la letteratura medica ci convinca dell'utilità degli isoflavoni di soia o del trifoglio rosso in menopausa: chi di noi pone attenzione o conosce se la ditta produttrice applica le cosiddette tecniche GMP (good manufacturing practices) like ovvero procedure qualitativamente assimilabili a quelle utilizzate per la produzione di un farmaco vero e proprio? (4). Se solo pensiamo ai tanti prodotti per attenuare i sintomi della menopausa che si possono trovare in commercio la valutazione che il medico è

## Beta-carotene e fumo: un'associazione molto rischiosa

### Introduzione

Il beta-carotene fa parte del gruppo dei carotenoidi, composti grasso-solubili naturalmente presenti in molti tipi di frutta e verdura, ad attività antiossidante. Alfa, beta e gamma carotene sono considerati provitamine in quanto convertibili nella forma attiva della vitamina A.

Il beta-carotene è una sostanza presente, oltre che negli integratori alimentari, anche in diverse specialità medicinali sia come principio attivo, in relazione alle sue proprietà antiossidanti, che come eccipiente.

Diversi studi hanno evidenziato un aumento del rischio di insorgenza di tumore polmonare, ma anche di tumore della prostata, adenoma colon-rettale, mortalità da patologia cardiovascolare e mortalità globale, in forti fumatori che assumevano beta-carotene.

### Le evidenze in letteratura

Le evidenze a favore dell'aumento del rischio di insorgenza di tumori e mortalità da assunzione di beta-carotene in popolazioni a rischio sono di seguito riassunte:

- Lo studio ATBC (Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study)<sup>1-3</sup>: si tratta di un trial clinico randomizzato, in doppio cieco, a 4 bracci (beta-carotene 20mg/die, beta-carotene 20mg/die + tocoferolo, tocoferolo, placebo), con una mediana di trattamento pari a 6 anni, condotto in una popolazione di maschi tutti fumatori. In questo studio (29.133 fumatori randomizzati nei 4 gruppi), l'incidenza di casi di tumore polmonare era del 18% più elevata tra coloro che assumevano beta-carotene rispetto a coloro che assumevano tocoferolo o placebo. La mortalità generale è risultata dell'8% più elevata rispetto ai gruppi che non prendevano beta carotene. Non sono stati evidenziati segni di interazione tra beta-carotene e tocoferolo.
- Lo studio CARET (Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial)<sup>4</sup>: un trial clinico randomizzato

in doppio cieco, a 2 bracci di trattamento (retinolo+beta-carotene 30mg/die, placebo), durato in media 4 anni (lo studio è stato interrotto in seguito ai risultati preliminari sfavorevoli), condotto in forti fumatori o esposti ad asbesto. I risultati dello studio CARET hanno mostrato un'incidenza di tumore polmonare più elevata del 28% nel gruppo trattato con beta-carotene, ed incrementi dell'incidenza di mortalità generale del 17% oltre che di mortalità per cause cardiovascolari del 26%.

- Un trial clinico randomizzato, multicentrico, in doppio cieco, contro placebo, volto a valutare l'effetto del beta-carotene nella prevenzione dell'adenoma colon-rettale in pazienti che in passato avevano avuto un adenoma e che non avevano polipi<sup>5</sup>; lo studio era disegnato secondo 2 bracci di trattamento (beta-carotene 25 mg/die e placebo); tutti i pazienti assumevano contemporaneamente anche vitamina C e E; i risultati dello studio hanno evidenziato che il beta-carotene riduceva significativamente il rischio di ricorrenza di adenoma nei non fumatori e nei non bevitori di alcool, ed incrementava (non significativamente) il rischio nei fumatori o bevitori, mentre aumentava significativamente il rischio di ricorrenza nei fumatori-bevitori.
- Uno studio epidemiologico di tipo prospettico<sup>6</sup> è stato condotto su una coorte di circa 60.000 donne francesi; lo studio è partito nel 1994 e dopo una mediana di follow-up pari a 7,4 anni, 700 donne hanno sviluppato un tumore correlabile al fumo. Sono state raccolte informazioni sulla dieta, supplementi vitaminici e abitudine al fumo per mezzo di questionari consegnati alle pazienti all'inizio dello studio. I risultati hanno evidenziato che somministrazioni di beta-carotene sono correlate ad una riduzione del rischio di tumori nelle non fumatrici, mentre nelle fumatrici il rischio aumenta. I rischi evidenziati dallo studio sono dose-dipendente.
- La monografia<sup>7</sup> sul beta-carotene, redatta dal gruppo americano "The Natural Standard

# Prospettive di studio

- Inositolo e partner maschile nella coppia sterile
- Inositolo e partner maschile nella coppia poliabortiva
- Inositolo e ricerca di base seminologica (in collaborazione con la Dott.ssa A. Stringaro dell'Istituto Superiore di Sanità e il Dott. Unfer)

# Grazie per l'attenzione

