

## La riproduzione umana: una nuova prospettiva

E. PAPAEO, M. MOLGORA, M.T. POTENZA, L. QUARANTA, A. FERRARI

Tutte le azioni delle gonadotropine (FSH e LH) a livello ovarico si esplicano tramite una cascata di reazioni intrafollicolari o intracellulari, che necessitano di numerose molecole, le quali agiscono quindi come secondi messaggeri.

Tra tante molecole coinvolte, myo-inositolo e melatonina sembrano essere presenti e attive in tutte le fasi del ciclo ovarico, sia quella follicolare durante il picco ovulatorio, sia nella fase luteale.

Il **myo-inositolo** è un precursore nella sintesi dei fosfolipidi di membrana ed inoltre agisce come secondo messaggero intracellulare del sistema di trasduzione del fosfatidil-inositolo (PtdIns), implicato nella regolazione di diverse funzioni cellulari, inclusa la proliferazione cellulare stessa (Berridge and Irvine, 1989).

La sua azione di secondo messaggero si esplica tramite la modulazione del rilascio intracellulare del Ca (2+) con sempre maggiori evidenze scientifiche che questo evento cruciale e strettamente correlato alla maturazione gametica, inclusa quella ovocitaria, alla fertilizzazione e allo sviluppo embrionario precoce (Mehlmann and Kline, 1994; Jones et al., 1995; Stachecki and Armant, 1996).

Inoltre, durante la crescita follicolare, la sua presenza nei fluidi follicolari stessi sembra esercitare una specifica, positiva influenza, sulla maturazione ovocitaria, evento fondamentale per una corretta fertilizzazione e successiva crescita embrionaria (Chiu et al, 2002).

Elevati livelli di melatonina sono presenti nei fluidi di follicoli in fase pre-ovulatoria, in concentrazioni tre volte maggiori rispetto ai livelli sierici (Brzezinski et al., 1987; Rönnerberg et al., 1990); la sua concentrazione è tanto maggiore quanto maggiore è il diametro follicolare in donne sottoposte a trattamenti per fecondazione *in vitro*.

È quindi possibile considerare che la melatonina, in

parte sia sintetizzata dalle cellule dell'ovaio e venga poi rilasciata nei fluidi follicolari, anche se la quota maggiore riscontrata nel tessuto ovarico e nei fluidi follicolari deriva dal circolo sistemico.

All'interno dei follicoli antrali la melatonina regola la steroidogenesi, direttamente o modulando l'attivazione genica degli enzimi della steroidogenesi nelle cellule della teca e della granulosa.

Inoltre la sua presenza è positivamente correlata all'espressione del LH mRNA, all'attività intrafollicolare di IGF e TGF- $\beta$ , e all'attività del *maturation-inducing hormone* (MIH).

Nel momento cruciale dell'ovulazione, l'attivazione ovocitaria e la successiva crescita embrionaria necessitano di un segnale Ca (2+) mediato, indotto dallo spermatozoo durante la fertilizzazione. (Vanderheyden V., et al., 2009)

Prima della fertilizzazione, il sistema ovocitario dei canali del calcio viene predisposto attraverso l'espressione di recettori appartenenti alla famiglia dell'inositol-1,4,5-trifosfato (IP(3)R1), responsabili della maggior parte del rilascio di Ca (2+) intracellulare, di provenienza soprattutto dal reticolo endoplasmatico (Ajduk A. et al., 2008)

In questa cascata di eventi il myo-inositolo agisce quindi come secondo messaggero intracellulare.

L'incremento della concentrazione intracellulare di Ca (2+) è il segnale che determina l'attivazione ovocitaria con ripresa e completamento della prima divisione meiotica e la formazione dei due pronuclei, garantendo inoltre il blocco della polispermia e il reclutamento del mRNA materno, necessario per l'attivazione del genoma embrionario.

L'ovulazione comunque necessita di un picco di LH ipofisario e del suo legame con i recettori delle cellule della granulosa. Questo processo si verifica come risultato di una dinamica interazione tra LH e fattori locali, in un preciso succedersi di eventi.

Nelle cellule della granulosa, entrambi i recettori della melatonina (MT1 e MT2) e il legame con la melatonina stessa sono in grado di scatenare una cascata di eventi che implementano l'espressione del LH mRNA recettoriale (Woo et al., 2001).

Inoltre il fenomeno ovulatorio è sovrapponibile ad una risposta infiammatoria con marcata produzione di radicali liberi, che sono in grado di indurre fenomeni apoptotici nelle cellule del tessuto ovarico (Espey, 1994).

La melatonina con la sua azione antiossidante è in grado di proteggere il tessuto ovarico e l'ovocita dall'azione tossica dei radicali liberi che sono indotti dall'ovulazione stessa (Tan et al., 2002; Reiter et al., 2004).

Infine, nella fase luteale il legame tra l'ormone luteinizzante (LH) o la gonadotropina corionica (hCG) e il recettore espresso sulle cellule della granulosa, determina una cascata di eventi ordinata che porta all'attivazione di diverse molecole intracitoplasmatiche. Il meccanismo di azione del LH include la sintesi di diversi secondi messaggeri, come i derivati dell'adenilato-ciclaso o dell'inositol-fosfolipasi C (PLC). Questi eventi regolano il metabolismo cellulare, la trascrizione genica, la proliferazione e la differenziazione cellulare (Davis, 1994).

Durante la fase luteale la secrezione di progesterone è un fattore chiave nell'impianto embrionario e nel mantenimento della gravidanza in fase iniziale, attraverso la regolazione dell'attività delle cellule della granulosa.

Un significativo incremento di melatonina in fase luteale stimola la secrezione di progesterone, sia direttamente, sia indirettamente tramite aumento dell'espressione dei recettori del LH (mRNA-LH-r) da parte delle cellule della granulosa stessa.

Il ciclo ovulatorio è un complesso sistema di segnali ormonali che si verificano con un ben preciso e preordinato

equilibrio, che ha come fine ultimo l'ovulazione, il concepimento e il mantenimento della gravidanza iniziale.

Se il ruolo principale è giocato dalle gonadotropine ipofisarie (FSH e LH), non meno importanti sono quelle molecole che a livello periferico hanno il compito di trascrivere e trasmettere il messaggio che deriva dal legame delle gonadotropine con i loro specifici recettori.

Non solo però l'azione di queste molecole si manifesta nell'attività di secondi messaggeri, bensì anche nella capacità di stimolare le cellule stesse ad esprimere in maniera corretta (sia quantitativa che qualitativa) i recettori stessi delle gonadotropine ipofisarie.

Tra tutte le molecole, inositolo e melatonina, in maniera specifica sono implicate in tutte le fasi del ciclo ovulatorio, dalla follicologenesi, all'ovulazione, alla fase luteale e della gravidanza iniziale.

L'inositolo, come costituente dei recettori di membrana, è il primo segnale della cascata di eventi, che tramite i canali del Ca<sup>2+</sup>, regolano la follicologenesi, l'ovulazione (con il completamento della prima divisione meiotica) e lo sviluppo delle prime fasi embrionarie.

La melatonina, invece, con una azione più prettamente tissutale, agisce come substrato delle cellule della granulosa e della teca, amplificandone la risposta agli stimoli ormonali.

Il sinergismo delle due molecole e la contemporanea azione a livello ovarico, sono la chiave di volta che garantisce l'efficacia di un fenomeno così complesso come quello della riproduzione umana.

## Bibliografia

1. AJDUK A, MAŁAGOCKI A, MALESZEWSKI M. *Cytoplasmic maturation of mammalian oocytes: development of a mechanism responsible for sperm-induced Ca<sup>2+</sup> oscillations*. *Reprod Biol*. 2008;Mar;8(1):3-22. Review.
2. BERRIDGE MJ. *Inositol triphosphate and calcium signalling*. *Nature* 1993; 361:315-325.
3. BRZEZINSKI A, M.M. SEIBEL, H.J. LYNCH, M.H. DENG AND R.J. WURTMAN. *Melatonin in human preovulatory follicular fluid*. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64 pp. 865-867.
4. CHIU TT, ROGERS MS, LAW EL, BRITON-JONES CM, CHEUNG LP, HAINES CJ. *Follicular fluid and serum concentrations of myo-inositol in patients undergoing IVF: relationship with oocyte quality*. *Hum Reprod* 2002;Jun;17(6):1591-6.
5. DAVIS JS. *Mechanisms of hormone action: luteinizing hormone receptors and second-messenger pathways*. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1994;Jun;6(3):254-61. Review.
6. ESPEY LL. *Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction*. *Biol Reprod* 1994; 50 , pp. 233-238.
7. JONES KT, CARROLL, J, AND WHITTINGHAM, DG. *Ionomycin, thapsigargin, ryanodine, and sperm induced Ca<sup>2+</sup> release increase during meiotic maturation of mouse oocytes*. *J. Biol Chem* 1995;270, 6671-6677.
8. MEHLMANN LM AND KLINE D. *Regulation of intracellular calcium in the mouse egg: calcium release in response to sperm or inositol triphosphate is enhanced after meiotic maturation*. *Biol Reprod* 1994; 51, 1088-1098.
9. REITER RJ, TAN DX, GITTO E, SAINZ RM, MAYO JC AND LEON J. et al. *Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage*. *Pol J Pharmacol* 2004;56 , pp. 159-17
10. RÖNNBERG L, KAUPPILA A, LEPPÄLUOTO J, MARTIKAINEN H AND VAKKURI O. *Circadian and seasonal variation in human preovulatory follicular fluid melatonin concentration*. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71, pp. 492-496.
11. STACHECKI JJ. AND ARMANT, DR. *Transient release of calcium from inositol, 1,4,5-triphosphate specific stores regulates mouse preimplantation development*. *Development* 1996; 122, 2485-2496.
12. TAN DX, REITER RJ, MANCHESTER LC, YAN MT, EL-SAWI M AND SAINZ RM. et al. *Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger*. *Curr Top Med Chem* 2002;2, pp. 181-197.
13. VANDERHEYDEN V, WAKAI T, BULTYNCK G, DE SMEDT H, PARYS JB, FISSORE RA. *Regulation of inositol 1,4,5-triphosphate receptor type 1 function during oocyte maturation by MPM-2 phosphorylation*. *Cell Calcium* 2009; Jul;46(1):56-64. Epub 2009 May 30.
14. WOO .MM, TAI CJ, KANG SK, NATHWANI PM, PANG SF AND LEUNG PCK. *Direct action of melatonin in human granulosa-luteal cells*. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86, pp. 4789-4797.