

Generalità sulle vitamine e sul loro impiego nella prevenzione delle patologie neoplastiche e degenerative.

Premessa

I concetti basilari sull'impiego delle vitamine nella prevenzione delle malattie neoplastiche, per la vastità del tema sono esposte in estrema sintesi, attingendo alle banche dati medico scientifiche mondiali sull'argomento e a lezioni magistrali o conferenze del Prof. Luigi Di Bella. Eventuali carenze, oltre che dalla complessità dell'argomento, derivano dalla difficoltà di sintetizzare e divulgare la vastità e la profondità dei concetti medico scientifici esposti dal Prof: Di Bella nelle sue conferenze, che spaziano dalle scienze matematiche, alla chimica, biochimica, fisica, fisiologia, biologia, farmacia e clinica.

La caratteristica essenziale della vita è il ricevimento, l'elaborazione e la cessione di materiale da parte delle vitamine. Questo con la finalità di mantenere costanti forma, struttura, rapporti endogeni, qualità, quantità, densità delle varie forme di energia. Il terreno biologico, organico, animato dalla vita formalmente, qualitativamente, quantitativamente e sotto l'aspetto razionalistico è indagato, studiato, descritto dall'istologia e dall'anatomia. La sua struttura chimica è studiata dalla biochimica, il rapporto tra materia ed energia, i riflessi energetici dei mutamenti della materia sono studiati dalla biofisica. La fisiologia studia quel finalismo delle attività della sostanza vivente, che tende a mantenere costanti la realtà materiale e quella energetica, pur in contrasto alle sollecitazioni che provengono dall'esterno (esogene) o spontaneamente prodotte nell'organismo vivente (endogene). La materia che compone l'universo muta in base all'entità, concentrazione e natura dell'energia che la anima, di cui non conosciamo razionalmente origine ed essenza ma modalità e velocità di reazioni con cui agisce. Queste reazioni possono essere convenzionalmente positive o negative e dall'entità nel tempo di queste reazioni si ha l'equilibrio organico, che oscilla entro margini ristretti. Esso è rivolto a mantenere costante il rapporto tra composizione materiale e contenuto energetico. Ogni mutamento ha un aspetto materiale, biochimico, biofisico che interagiscono. Le cellule e gli organuli che contengono, rappresentano la sede in cui avvengono le reazioni, cioè i cambiamenti materiali della sostanza vivente. Dall'equilibrio di queste reazioni positive e negative origina quella situazione di stabilità che è condizione ed aspetto essenziale della vita, considerando che ogni cambiamento della materia vivente non può prescindere da un adeguamento dello stato energetico. Solo minime variazioni quantitative di, produzione, assorbimento, cioè elaborazione del terreno biologico e del suo corrispettivo energetico, sono compatibili con la vita, cioè le reazioni devono procedere per passaggi graduali di entità minima materiali-energetici, reciprocamente compensati nel tempo. Per l'estrema gradualità di queste

reazioni apparentemente nulla è cambiato perché si è realizzato con equivalenza materiale-energetica di costruzione e distruzione, di produzione e assorbimento di energia e materia. Ciò si realizza se la materia trasformata è di entità minima, con trasmutazione attraverso gradi ugualmente minimi. Questo continuo divenire per le eccezionali finalità cui tende deve essere modulato e graduato con estrema finezza, e nelle sue linee essenziali sarebbe impossibile senza le vitamine il cui fine è il condizionamento e la regolazione di quell'equilibrio materia-energia su cui poggia la vita.

La piena conoscenza delle vitamine equivale alla conoscenza dei più fini equilibri e dei rapporti energia-materia e di tutti i riflessi sull'attività vitale. Se questa è l'essenza della vita se ne comprende il peso determinante nelle deviazioni tumorali dalla vita fisiologica. La conoscenza della composizione chimica, della formazione, della localizzazione all'interno della cellula, del momento del loro intervento, della regolazione e dell'entità della loro attività consente di cogliere l'essenza della vita fisiologica e di correggere le sue deviazioni patologiche, perciò dal suo ruolo originario biochimico-vitale, la vitaminologia è assurda a quello terapeutico razionale essenziale sia nella prevenzione che nella cura di varie patologie. Pertanto la conoscenza approfondita dei meccanismi regolatori della vita normale, fisiologica, consente la predisposizione di contromisure efficaci per evitare deviazioni incompatibili con la salute e con la vita per un periodo indefinito. Teoricamente la vitaminologia consentirebbe di prevedere una durata impensabile della vita attiva, perfettamente adattabile a tutte le contingenze.

Le vitamine nella prevenzione

Generalità sulle vitamine

Fino a pochi decenni fa la chimica, la biochimica, la farmacologia e la fisiologia studiavano, come elementi sufficienti a soddisfare ogni necessità dell'organismo umano, i glicidi (zuccheri), i lipidi (grassi), i protidi (proteine) e i minerali come ferro, calcio, fosforo ecc. Questo concetto fu accettato finché dati clinici e sperimentali non evidenziarono sostanze che in quantità minime svolgono funzioni primarie per la vita e la cui assenza è incompatibile con la vita stessa: le vitamine. La definizione sottolinea il concetto della loro funzione vitale ed è dovuta a Funk che nella prima vitamina studiata, la B1, scoprì una componente chimica definita "aminica" (NH₂) da ciò amine della vita. Da allora le vitamine crearono un capitolo primario in medicina, biologia e farmacia.

Esse sono sostanze organiche, con piccole molecole (basso peso molecolare) che intervengono nelle reazioni del nostro organismo in quantità e concentrazioni dell'ordine di millesimi di milligrammo, incidendo sui processi fondamentali della vita, tra cui il più complesso e studiato, quello della crescita, che quando è patologica e incontrollata, diventa tumore. Proprio per attivare la

crescita in passato si somministravano preparati di fegato, essendo esso tra gli organi più ricchi di vitamine. I danni da carenza vitaminica furono intuiti nei secoli scorsi in base a constatazioni empiriche che portavano a imbarcare sulle navi in partenza per lunghi viaggi oceanici, scorte di frutta e vegetali. La vitaminologia assurse alla dignità di scienza sperimentale quando, dalle osservazioni e dalle intuizioni, si risalì all'identificazione biologica e chimica delle vitamine. Classica è l'osservazione di Eijkman sulla polineurite aviaria dei polli, provocata da diete a base di riso brillato, che veniva guarita dalla somministrazione della pula di riso. Nel 1885 Takaki, medico della marina giapponese, con diete variate di ortaggi e legumi, prevenne una forma di polineurite definita "Beri-beri", tipica dei marinai imbarcati per lunghi viaggi, ma solo nel 1911 Funk riuscì a preparare dalla pula di riso una sostanza attiva contro la polineurite. Nel 1926 Jansen e Donath la ottennero cristallizzata e la denominarono "Aneurina" (B1) per sottolineare il concetto che la sua carenza provoca lesioni del sistema nervoso.

Lo studio della composizione alimentare, che portava nel tempo alla sindrome carenziale portò al progresso della vitaminologia e della scienza dell'alimentazione. Gli studi biologici su animali da esperimento portarono ad individuare vari rapporti causali dietetici, carenziali vitaminici e relative manifestazioni patologiche. Ad esempio le cavie non riescono a formare la vit. C, come gli uccelli non formano la B1, per cui per una dieta carente sviluppano una sindrome polineuritica. Una delle caratteristiche più suggestive della vitaminologia è la rapidità della scomparsa e remissione completa dei sintomi da carenza, contestualmente alla somministrazione del principio vitaminico mancante. Un ratto tenuto a dieta carente di B1 (detta anche Aneurina o Tiamina), in stato di grave decadimento fisico, con atassia (disordine e incoordinazione dei movimenti) e astasia (incapacità a mantenere la posizione normale) dopo pochi minuti dall'iniezione di vit. B1, ritorna normale. Molte vitamine sono formate nel tubo digerente ad opera della flora batterica intestinale, per cui in patologie gastroenteriche e/o disordini alimentari vi possono essere sindromi carenziali per le alterate condizioni della flora batterica intestinale. Quando si programma una cura, si deve sempre tenere presente la funzione vitamino-produttrice della flora batterica intestinale, assicurandone la continuazione dell'attività di sintesi biologica delle vitamine. Il fabbisogno giornaliero è condizionato da molteplici e complesse varianti quali l'attività psicofisica, le abitudini, l'alimentazione, la temperatura ambientale, l'attività sportiva, malattie, convalescenze, gravidanza, età ecc. Ad esempio in gravidanza, per l'aumentato fabbisogno, sono più probabili le sindromi carenziali vitaminiche. Dopo l'individuazione della struttura chimica, le vitamine sono state sintetizzate. Per un corretto funzionamento organico è sufficiente una quantità esigua di vitamine dell'ordine di milligrammi o frazioni di milligrammo. Unica eccezione la vit. C, di cui si richiedono alcuni centigrammi giornalieri e che può essere, in particolari situazioni, utile anche in uno o più

grammi giornalieri. Al contrario, della B12 sono sufficienti frazioni di milligrammo. Nell'equilibrio dinamico di ogni vitamina, giocano un ruolo determinante, da una parte la quantità introdotta con la dieta, dall'altra quella consumata nel metabolismo e infine la perdita per gli emuntori: renale, cutaneo (attraverso la sudorazione) ed enterico. Una profusa e prolungata sudorazione, una grave poliuria per diabete insipido, una prolungata diarrea coleriforme, possono portare a rapidi e gravi stati carenziali multipli per abnormi perdite di vitamine essenziali. Le vitamine introdotte con l'alimentazione vengono assimilate se l'apparato digerente e l'epitelio costituente la mucosa intestinale ne consentono il passaggio. Se in condizioni normali l'assimilazione delle vitamine attraverso i vasi sanguigni e linfatici è semplice e completa, in molte patologie è limitata più o meno gravemente da insufficiente permeabilità intestinale a seguito di interventi limitativi della superficie intestinale, conseguente all'asportazione di tratti d'intestino o lesioni della mucosa come nelle coliti, in particolare ulcerose, come il morbo di Crohn, nel quale la superficie dei villi intestinali può essere drasticamente ridotta. Elemento non secondario è anche lo stato del circolo intestinale, se per lesioni distrettuali o cause sistemiche vi è un'alterazione della disposizione, della pervietà, della perfusione vascolare intestinale, ne risulta compromessa la capacità generale di assorbimento e pertanto anche quella specifica vitaminica.

La diagnosi differenziale e la discriminazione tra disturbi organici diretti e quelli conseguenti a carenza vitaminica, non è sempre agevole e ha costituito un ostacolo al progresso della vitaminologia.

Harris ha così sintetizzato le proprietà delle vitamine:

- 1) Sono distribuite negli alimenti in piccole quantità.
- 2) Differiscono dai principali componenti degli alimenti stessi (protidi, lipidi, glicidi, minerali e acqua).
- 3) Sono necessarie in piccole quantità per la normale nutrizione degli organismi.
- 4) Mancando nella dieta inducono specifiche manifestazioni carenziali, definite avitaminosi.

La classificazione delle vitamine si basa sulla loro solubilità nell'acqua (idrosolubili) come quelle del gruppo B, che possono diffondere ed essere facilmente assorbite nella linfa e nel sangue, oppure nei lipidi (liposolubili) come le vitamine A, D, E, K. Esse si diffondono con meccanismi diversi nella linfa e nel plasma, il passaggio è più complesso che per le idrosolubili, diversi organi come il fegato hanno capacità di immagazzinarle e si addensano in alte concentrazioni durante la fase di assorbimento della digestione.

Retinoidi

Questa definizione comprende la vit. A o Retinolo, che chimicamente è un alcol primario, le provitamine A, circa una decina, tra cui i Carotenoidi, i derivati della vit. A, come l'Acido Retinoico, l'aldeide detto Retinene, componente essenziale delle porpora visiva dei bastoncelli. Così sono definiti quei fotorecettori della retina, essenziali per la visione. Il processo della visione comporta un continuo richiamo di vit. A dal sangue alla retina, studiato da Wald.

Storicamente i primi dati sull'esistenza di un fattore necessario per la vita e la visione risalgono al Papiro di Eber, circa 1500 anni prima di Cristo. In esso si prescriveva fegato di bue per disturbi della visione, lesioni della cornea e ulcere. Osservazioni analoghe si devono a Megendie nel 1816 e Streop nel 1909, rispettivamente nei cani e topi, trattati con diete estratte con etere ed alcol e pertanto prive dei principi vitaminici liposolubili. Il concetto di liposolubilità di questi principi vitaminici (A.D.E.K.) si deve a M.C. Collum insieme al termine di vit. A. Si scoprì che alimenti come il giallo d'uovo, e altri di simile colore, potevano svolgere attività simili alla vit. A. La sua esistenza era già intuita dagli Egiziani e dai Cinesi che ne curavano i sintomi di carenza con polvere di fegato essiccato di animali, essendo esso l'organo più ricco di retinoidi. Per poco che vi sia di vit. A nel nostro organismo, si deposita nella cellula epatica, che sa accumularla e proteggerla perché è molto labile soprattutto nei confronti degli agenti ossidanti. L'integrità della pelle, delle vie aerodigestive, ghiandolari e urogenitali, la capacità di reagire di questi tessuti ad agenti traumatici e/o infettivi è sempre sicuramente espressione di adeguata presenza di vit. A. Essa pertanto per lesioni di qualunque natura di questi tessuti rappresenta il rimedio sovrano. In adeguata quantità non nuoce, 40-50.000 unità al giorno sono tollerate senza alcun danno. Il campo d'azione della vit. A essendo relativo a tutto il tessuto di rivestimento cutaneo e a tutti gli epiteli degli organi interni, è immenso e vitale. Alcuni scienziati tra cui Kuhn, Karrer e Euler hanno studiato anche i rapporti col Beta-Carotene. Poiché le diete di oggi sono più ispirate dal piacere che dalla fisiologia, non sono poche quelle prive o carenti di vit. A. Il fegato ha un ruolo dominante nel metabolismo della vit. A, che con i retinoidi, svolge un ruolo fondamentale sia nella prevenzione che nella terapia dei tumori, delle conseguenze, indotte dal tumore e di quelle indotte dalle terapie usuali antitumorali. E' pertanto pienamente giustificata la sua inclusione nella miscela vitaminica componente del protocollo antitumorale del Prof. Di Bella (M.D.B.) nelle seguenti proporzioni:

Beta Carotene	Gr 2
Ac Trans retinoico	Gr 0.5
Axeroftolo Palmitato	Gr 0.5
in Alfa tocoferile acetato	Gr 1000

Regolando lo spessore della cute, il trofismo, l'evaporazione, la vit. A regola alcuni dei meccanismi di controllo della temperatura corporea. La sua carenza determinando ispessimento e secchezza, diminuisce la conduzione di calore e la sua sottrazione mediante evaporazione, trasformando la pelle in isolante termico. Un ammalato di tumore, sottoposto a trattamenti convenzionali, che provocano carenza di vit. A, può avere per questi meccanismi un aumento della temperatura corporea che è ipertermia, non febbre, la quale è una situazione di aumento della temperatura in presenza di meccanismi di termoregolazione integri. Nell'ipertermia i meccanismi di regolazione sono alterati in mancanza della termolisi, della dispersione termica.

Un altro retinoide, è l'acido trans retinoico, derivato dalla vit. A, per sostituzione del gruppo alcolico terminale OH con un gruppo carbossilico COOH, al di fuori di questa differenza le due molecole dell'Acido retinoico e dell'Axeroftolo (Vit A) sono perfettamente identiche.

Appartiene ai retinoidi anche il Betacarotene, che come dice il nome, dovrebbe trovarsi in natura soprattutto nelle carote, oltre che in vari vegetali. La possibilità reale di assimilazione dipende dalla capacità di estrazione da parte dell'intestino, da cui attraverso l'apparato circolatorio e linfatico raggiunge il fegato dove viene depositato ed elaborato, soprattutto nelle cellule di Kupfer, da cui viene mobilizzato per sopperire al fabbisogno organico. Il Betacarotene è come la duplicazione dell'Axeroftolo (vit. A), infatti è composto da 40 atomi di carbonio e 56 di idrogeno contro i 20 atomi di carbonio e 28 di idrogeno della vit. A o Axeroftolo. In considerazione di ciò Kuhn ha ipotizzato che da una molecola di Betacarotene ne derivassero esattamente due di vit. A, attraverso meccanismi enzimatici epatici ipotizzati e studiati con metodi biologici. Infatti Kuhn mettendo dei ratti da esperimento in carenza di vit. A vide che riusciva a mantenerli in vita senza fenomeni carenziali di vit. A, somministrando esattamente la metà di Betacarotene, rispetto alla A ritenuta necessaria. Quindi fu evidenziato un rapporto talmente chiaro e netto che Kuhn non esitò ad affermare che una molecola di Betacarotene dava luogo a 2 molecole di vit. A. Ma il Betacarotene è un idrocarburo, in quanto tale è una molecola squisitamente apolare, priva di cariche e inerte. Per scindersi in due avrebbe dovuto essere attaccata da sistemi enzimatici senza i quali il Betacarotene non viene metabolizzato a vit. A, per cui nei casi definiti di carotenemia in cui vi è un colore itterico della pelle da eccesso di carotenoidi (ad eccezione delle sclere, elemento fondamentale di diagnosi differenziale con le epatopatie) bisogna ipotizzare la carenza di questi sistemi enzimatici che liberano vit. A. Ciò può avvenire anche per particolari malattie del fegato o per eccesso d'introduzione di carotenoidi. Nel caso di carotenemia questi pigmenti depositati nella pelle possono anche fotosensibilizzarsi.

Il Betacarotene è una grossa molecola con 40 atomi di carbonio, che è apolare. Ciò significa che si può inserire tra quelle molecole, o quelle parti apolari di molecole che appartengono agli

acidi grassi, cioè a quelle strutture che concorrono a formare uno degli elementi basilari della vita: la membrana cellulare. Essa è come la barriera, il transito obbligato attraverso cui tutto deve passare dalla cellula all'esterno e viceversa, per poter consentire la vita cellulare. Per questo l'Acido retinoico e l'Axeroftolo, o vit. A sono potenziati dal Betacarotene: non solo ma per poter ottenere la massima efficacia, nel composto vitaminico M.D.B., per poter ottenere effetti ottimali, il rapporto in peso del Betacarotene rispetto all'Acido retinoico e all'Axeroftolo (o vit. A) deve essere di quattro a uno. Quest'associazione vitaminica in parecchie migliaia di casi non solo si è rivelata perfettamente tollerata, senza inconvenienti o carotenemia, ma dà costantemente risposte positive.

I retinoidi sono associati da comune destino metabolico pure con peculiarità specifiche e differente grado di attività. Hanno in comune elementi chimici strutturali come l'anello (a forma di esagono) betaiononico e quattro legami insaturi nella catena laterale. Differiscono per la funzione chimica terminale che si lega all'ultimo atomo di carbonio della catena laterale. La funzione chimica può essere alcolica (Axeroftolo o vit. A), acida (Ac Retinoico), aldeidica (Retinale). Dalla duplicatura, dalla somma di 2 molecole di Axeroftolo si ottiene il Betacarotene.

La formula di struttura dei retinoidi (che sono chimicamente degli idrocarburi) consente d'intuire, a chi conosce la chimica organica, la loro labilità e facile ossidabilità. Per questo, per stabilizzarli e preservarne integra l'attività, nel composto vitaminico M.D.B. sono solubilizzati in vit. E che li stabilizza e ne preserva le proprietà farmacologiche e terapeutiche. Si può determinare il contenuto di vit. A nel sangue con metodi spettrofotometrici o colorimetrici (reazione di Carr-Price). A livello intestinale la vit. A è assorbita chimicamente coniugata con sostanze che la rendono più stabile, come l'ac. palmitico, oppure sotto forma di carotenoidi. Il suo assorbimento è facilitato da lipidi (grassi) alimentari ed acidi biliari. Attraverso le vie linfatiche gli esteri di vit. A si concentrano rapidamente soprattutto nel fegato che ne contiene fino al 90%, da cui viene mobilizzata per il fabbisogno e/o eliminata attraverso gli acidi biliari. Attraverso gli epitelii dei tubuli renali passano nelle urine esigue quantità di vit. A, la cui presenza è essenziale anche nei primi giorni del concepimento per la formazione e funzione della placenta; già dopo i primi 10-20 giorni l'embrione comincia a sintetizzare l'associazione di proteine con vit. A.

Nel fegato umano sono state riscontrate concentrazioni di vit. A fino a 100-300Mg per Kg. Attraverso il sangue la vit. A viene veicolata da complessi proteici, cui si associano una frazione prealbuminica e la Tiroxina. Queste sostanze sono vitali per il suo trasporto e la diffusione fino ad organuli cellulari come i Mitocondri, il Reticolo del Golgi o il nucleo cellulare. Risultano pertanto essenziali per veicolare e utilizzare la vit. A, l'equilibrio sieroproteico, tiroideo ed ipofisario. La concentrazione ematica di vit. A può aumentare per apporto alimentare o per lipolisi tissutale da rapido dimagrimento, ma nei vari casi, meccanismi omeostatici di regolazione tendono a

mantenerne stabile la concentrazione. Un primo danno da epatopatia deve considerarsi l'alterato assorbimento e metabolismo della A e dei retinoidi, così come nell'etilismo e nell'uso di contraccettivi orali. Nelle varie fasi del ciclo mestruale varia il tasso di vit. A. Nella prima fase della vita viene assunta soprattutto attraverso il latte in cui è presente come composto, sotto forma di estere.

I retinoidi svolgono attività primarie per la prevenzione dalle malattie infettive, degenerative e tumorali. La vit. A è infatti definita sia come vitamina della crescita che antinfettiva e antixeroftalmica (impedisce lesioni corneali che possono portare alla cecità). La sua mancanza provoca lesioni dei tessuti epiteliali sia cutanei che delle vie aerodigestive. La pelle, in carenza di vit. A si ispessisce, soprattutto per aumento dello strato corneo, perde elasticità, tendono ad atrofizzarsi le ghiandole sudoripare, sebacee, con atrofia dei bulbi piliferi, alopecia. Questi fenomeni regressivi-degenerativi, si estendono anche agli epitelii di rivestimento dell'apparato respiratorio, digestivo, genito-urinario e ghiandolare. Anche il sistema scheletrico risente dello stato distrofico-degenerativo. Un gruppo di consultazione internazionale del W.H.G. (Organizzazione mondiale della sanità) studia gli stati carenziali di vit. A nei paesi poveri, e osserva sintomi carenziali come ipercheratosi follicolare, infezioni cutanee, eczemi, bronchiti, cistopieliti ecc. Nelle zone di grave carenza sono frequenti le malformazioni fetali, le manifestazioni degenerative, infiammatorie dell'apparato genitale e della secrezione mammaria. Si osservano inoltre gli effetti teratogeni, aborti spontanei, mentre le malformazioni scheletriche dipendono da alterata attività degli osteoclasti che controllano il metabolismo del calcio. E' compromesso anche il sistema immunitario dalla carenza di vit. A, con vari meccanismi tra cui la sintesi di immunoglobuline, depressione leuco-eritro-piastrinopoietica del midollo osseo. Nella proliferazione cellulare probabilmente la vit. A gioca un ruolo determinante anche attraverso il metabolismo delle poliamine, sulla regolazione della riproduzione e della velocità di crescita dei tessuti. Il metabolismo di alcuni aminoacidi come l'Ornitina e la Lisina, delle rispettive decarbossilasi, le interazioni col Betacarotene sono oggetto di studio. Il complesso proteico-prealbuminico R.B.P. (Retinoid-Binding-Proteins) è la chiave di volta della trasformazione dell'energia chimica a livello cellulare, attraverso i delicatissimi processi della visione, della crescita e della riproduzione cellulare. Sotto il profilo proteico la varietà alcolica o vit. A (Axeroftolo), l'aldeidica (Retinene), l'acida (Ac Retinoico) il derivato Betacarotene, con meccanismi molecolarmente diversi, incidono sulla vita nelle sue espressioni essenziali e delicate della dinamica energetica intercellulare. Non si può più disconoscere ai retinoidi un ruolo primario nella prevenzione e terapia della carcinogenesi. Una dimostrazione semplice e constatabile da chiunque è il contenimento prima, la soppressione poi, dell'atteggiamento aggressivo dei melanomi cutanei iniziali. Il nevo melanotico può

gradualmente normalizzarsi nel giro di qualche mese con l'applicazione giornaliera di Axeroftolo puro.

E' ormai immensa la letteratura mondiale a conferma delle proprietà antitumorali sia preventive che terapeutiche, dell'Axeroftolo, dell'Acido Retinoico e del Betacarotene. In una trattazione semplice e divulgativa come questa non si può che dare un cenno estremamente sintetico delle parecchie migliaia di pubblicazioni scientifiche e studi clinici reperibili nelle banche dati medico-scientifiche mondiali. Accenneremo ad alcune pubblicazioni a campione per ogni retinoide.

Già nel 1985 le linee essenziali del meccanismo d'azione dei retinoidi nella crescita e riparazione dei tessuti, proliferazione e crescita, si trova nel 113° volume della Ciba Foundation Symposia.

Bibliografia

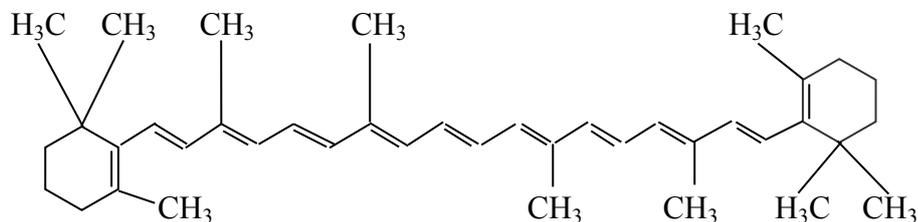
1. Aapro MS, *Retinoids in oncology*, Eur J Cancer. 1995; 31A(5): 834-835.
2. Benner SE, et al., *Chemoprevention of lung cancer*, Chest. 1995 Jun; 107(6 Suppl): 316S-321S. Review.
3. Benner SE, et al., *Retinoid chemoprevention of second primary tumors*, Semin Hematol. 1994 Oct; 31(4 Suppl 5): 26-30. Review.
4. Boehm MF, et al., *Design and synthesis of potent retinoid X receptor selective ligands that induce apoptosis in leukemia cells*, J Med Chem. 1995 Aug 4; 38(16): 3146-3155.
5. Bollag W, *Retinoids and cancer*, Cancer Chemother Pharmacol. 1979; 3(4): 207-215. Review.
6. Clamon GH, *Retinoids for the prevention of epithelial cancers: current status and future potential*, Med Pediatr Oncol. 1980; 8(2): 177-185. Review.
7. Costa A, et al., *Retinoids in cancer chemoprevention. Clinical trials with the synthetic analogue fenretinide*, Ann N Y Acad Sci. 1995 Sep 30; 768: 148-162. Review.
8. de Palo G, et al., *Risks and benefits of retinoids in the chemoprevention of cancer*, Drug Saf. 1995 Oct; 13(4): 245-256. Review.
9. Dolivet G, et al., [*Current knowledge on the action of retinoids in carcinoma of the head and neck*], Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord). 1996; 117(1): 19-26. Review. French.
10. Ferrari AC, et al., *Differentiation agents in cancer therapy*, Cancer Chemother Biol Response Modif. 1994; 15: 337-366. Review.
11. Garewal H, *Antioxidants in oral cancer prevention*, Am J Clin Nutr. 1995 Dec; 62(6 Suppl) 9: 1410S-1416S. Review.
12. Greenwaid P, *Preventive clinical trials. An overview*, Ann N Y Acad Sci, 1995 Sep 30; 768: 129-140. Review.
13. Greenwald P, *Selenium, retinal, retinal-binding protein, and uric acid. From epidemiology to clinical prevention trials*, Ann Epidemiol, 1991 Aug, 1(5): 473-475.
14. Hennekens CH, et al., *Vitamin A, carotenoids, and retinoids*, Cancer. 1986 Oct 15; 58 (8 Suppl): 1837-1841.
15. Holdener EE, et al., *Retinoids*, Curr Opin Oncol. 1993 Nov; 5(6): 1059-1066. Review.
16. Kalman DA, et al., *Micronutrient assay for cancer prevention clinical trials: serum retinol, retinyl palmitate, alpha-carotene, and beta-carotene with the use of high-performance liquid chromatography*, J Natl Cancer Inst. 1987 Nov; 79(5): 975-982.

17. Lippman SM, et al., *Retinoids and chemoprevention: clinical and basic studies*, J Celi Biochem Suppl. 1995; 22: 1-10. Review.
18. Lippman SM, et al., *Retinoids as potential chemopreventive agents in squamous cell carcinoma of the head and neck*, Prev Med. 1989 Sep; 18(5): 740-748. Review.
19. Lippman SM, et al., *Retinoids as preventive and therapeutic anticancer agents (Part I)*, Cancer Treat Rep. 1987 Apr; 71(4): 391-405. Review.
20. Lippman SM, et al., *Retinoids in chemoprevention of head and neck carcinogenesis*, Prev Med. 1993 Sep; 22(5): 693-700. Review.
21. Lotan R, *Retinoids as modulators of tumor cells invasion and metastasis*, Semin Cancer Biol, 1991 Jun, 2(3): 197-208. Review.
22. Michaeli J, et al., *Differentiating agents for transformed cells*, Cancer Chemother Biol Response Modif. 1993; 14: 330-352. Review.
23. Micheis KB, et al., *Vitamins and cancer: a practical means of prevention?*, Important Adv Oncol. 1994; 85-114. Review.
24. Moon TE, et al., *Design and recruitment for retinoid skin cancer prevention (SKICAP) trials. The Southwest Skin Cancer Prevention Study Group*, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1995 Set; 4(6): 661-669.
25. Moriwaki H, et al., *Retinoids and cancer chemoprevention*, J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 1992, 317-320.
26. Muto Y, [*Preventive use of retinoids for occurrence of liver neoplasms*], Nippon Naika Gakkai Zasshi. 1995 Dec 10; 84(12): 2032-2037. Review.
27. Norum KR, *Acute myeloid leukemia and retinoids*, Eur J din Nutr. 1993 Feb; 47(2): 77-87. Review.
28. Olson RE, *Vitamins and carcinogenesis: an overview*, J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 1992, 313-316.
29. Rautalahti M, et al., *Antioxidants and carciogenesis*, Ann Med. 1994 Dec; 26(6): 435-441. Review.
30. Sankaranarayanan R, et al., *Retinoids as cancer-preventive agents*, IARC Sci Publ. 1996; 139: 47-59. Review.
31. Serri F, et al., *Combination of retinoids and PUVA (Re-PUVA) in the treatment of cutaneous T cell lymphomas*, Curr Probl Dermatol, 1990, 19:252-257.
32. Smith MA, et al., *Retinoids in cancer therapy*, J Clin Oncol, 1992 May, 10(5): 839-864.
33. Trump DL, *Retinoids in bladder, testis and prostate cancer: epidemiologic, pre-clinical and clinical observations*, Leukemia. 1994; 8 Suppl 3: S50-S54. Review.
34. Wheatley C, *Vitamin trials and cancer*, Lancet. 1997 Jun 21; 349(9068): 1844-1845.

I retinoidi nella prevenzione e terapia dei tumori.

Betacarotene

C₄₀H₅₆



β - β -carotene; *trans*- β -carotene;

(*all-E*)-1,1'-(3,7,12,16-tetramethyl-1,3,5,7,9,11,13,15,17-octocanonaene-1,18-dyl)bis[2,6,6,-trimethylcyclohexene]; E160a.

Il Prof. Luigi Di Bella ha inserito il Betacarotene nel suo composto plurivitaminico sia per il notevole effetto di potenziamento ed esaltazione dell'azione degli altri componenti, che per il suo effetto protettivo su di essi e sulle membrane cellulari. Inoltre il Betacarotene esercita direttamente, come molecola (C₄₀-H₅₆) una specifica azione sia preventiva che terapeutica nella patologia neoplastica, come emerge da un'ampia letteratura relativa.

Nel 2000 Basu e AA (1) hanno pubblicato su *Phytomedicine* uno studio dal titolo "Il Betacarotene prolunga la sopravvivenza, diminuisce la perossidazione lipidica e aumenta il Glutazione nei linfomi murini trapiantabili". La pubblicazione ha un indubbio valore e pertanto dà indicazioni cliniche perché si basa anche su studi epidemiologici i quali concludono che l'assunzione di sostanze vegetali ricche di carotenoidi abbatte il rischio di certe forme di cancro. Oltre gli studi epidemiologici, altri sperimentali, condotti dagli stessi autori, hanno documentato come negli animali da esperimento trapiantati con cellule tumorali ad alto tasso di proliferazione del Linfoma di Dalton (DL) il Betacarotene aumenti nettamente la sopravvivenza. La progressione del tumore fu inoltre studiata per mezzo di due indici affidabili: Glutazione, che diminuisce rapidamente in corso di patologia neoplastica e Perossidazione lipidica, la cui presenza è esaltata dal progresso del tumore, e che sono stati ricondotti alla norma dal Betacarotene con un'evidentissima riduzione dei danni prodotti dalla perossidazione e forte effetto protettivo-antitossico da incremento del Glutazione. Si è registrato un netto prolungamento della sopravvivenza dovuta ad effetto antiproliferativo e a protezione di cellule e parenchimi dall'azione tossica indotta dalle cellule tumorali. Altri studi sull'utilità del Betacarotene furono condotti sull'uomo, studiando l'effetto preventivo nelle forme leucoplasiche precancerose orali (Liede (27), *European Journal of Clinical*

Nutrition, 1998). Dato confermato da Garewal (11), *Archives of Otolaryngology*, 1999, con uno studio clinico pluricentrico, a doppio cieco, controllato con placebo e pertanto affidabile e atto a fornire indicazioni clinico-terapeutiche. Esso conclude: “L’efficacia del Betacarotene nei pazienti con leucoplachia orale fu confermata.” Un’ampia trattazione è contenuta nello studio di Olson (36) “Carotenoidi e salute”, *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. Tra gli altri studi sull’effetto del betacarotene sulle lesioni precancerose orali citiamo Sankaranayanan (48) “Chemoprevention of oral leukoplakia with vit. A and Betacarotene...”, *Oral Oncology*, 1997. Vastissima è la letteratura circa l’evidenza dell’effetto preventivo antitumorale del Betacarotene.

Bibliografia

1. Basu A, *Il Betacarotene aumenta la sopravvivenza, diminuisce la perossidazione dei lipidi e aumenta il glutatione nei linfomi murini trapiantabili*, Fitomedicine, Apr. 2000.
2. Bendich A, *The safety of beta-carotene*, Nutr Cancer, 1988; 11(4): 207-214. Review.
3. Brodtkin CA, et al., *Lobe of origin and histologic type of lung cancer associated with asbestos exposure in the Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET)*, Am J Ind Med. 1997 Dec; 32(6): 582-591.
4. Buring JE, et al., *Beta-carotene and cancer chemoprevention*, J Cell Biochem Suppl, 1995, 22: 226-230. Review.
5. Buring JE, et al., *The alpha-tocopherol, beta-carotene lung cancer prevention trial of vitamin E and beta-carotene: the beginning of the answers*, Ann Epidemiol, 1994 Jan; 4(1): 75.
6. Buring-J, “Betacarotene e chemoprevenzione del cancro”, *Cell. Biochem. Suppl.*, 1995.
7. Challem JJ, *Re: Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy trial*, J Natl Cancer Inst. 1997 Feb 19; 89(4): 325-326.
8. Chuwers P, et al., *The protective effect of beta-carotene and retinol on ventilatory function in an asbestos-exposed cohort*, Am J Respir Crit Care Med. 1997 Mar; 155(3): 1066-1071.
9. Collins AR, Olmedilla B, Southon S, Granado F, Duthie SJ, *Serum carotenoids and oxidative DNA damage in human lymphocytes*, Carcinogenesis, Dec 1998; 19(12):2159-2162.
10. Faulks RM, Hart DJ, Scott KJ, Southon S, *Changes in plasma and vitamin E profile during supplementation with oil palm fruit carotenoids*, Journal of Laboratory and Clinical Medicine, Dec 1998; 132(6):507-511.
11. Garewal A, *Il Betacarotene produce una prolungata remissione in pazienti con leucoplachia orale: risultato di una sperimentazione prospettica multicentrica. L’attività del Betacarotene fu confermata nei pazienti con leucoplachia orale. Durata 1 anno*, Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery. Dec. 1999.
12. Garewal GS, *Potential role of beta-carotene in prevention of oral cancer*, Am J Clin Nutr, 1991 Jan, 53(1 Suppl): 294S-297S. Review.
13. Garewal H, *Chemoprevention of oral cancer: beta-carotene and vitamin E leukoplakia*, Eur J Cancer Prev, 1994 Mar, 3(2): 101-107. Review.
14. Garewal H., et al., *Cancer prevention: the case for carotenoids and anti-oxidant nutrients*, Prev Med, 1993 Sep, 22 (5): 701-711. Review.
15. Garewal HS, *Beta-carotene and vitamin E in oral cancer prevention*, J Cell Biochem Suppl, 1993, 17F: 262-269. Review.

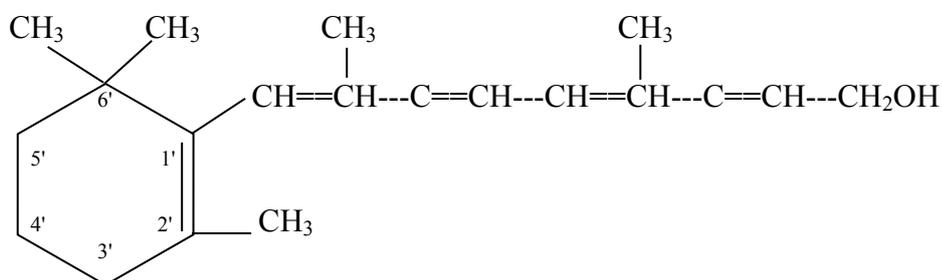
16. Garewal HS, et al., *Emerging role of beta-carotene and antioxidant nutrients in prevention of oral cancer*, Arch Otolaryngol Head Neck Surgery, 1995 Feb, 121(2):141-144. Review.
17. Garewal HS, et al., *Retinoids and carotenoids in the prevention of oral cancer: a critical appraisal*, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 1992 Jan, 1(2): 155-159. Review.
18. Garewal, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991, dal titolo significativo: "Ruolo potenziale del Betacarotene nella prevenzione del cancro orale".
19. Gerster H, *Intermediate cancer biomarkers and their use in beta-carotene studies in humans*, Int J Vitam Nutr Res, 1996, 66(1): 3-18. Review.
20. Greenberg ER, et al., *A clinical trial of beta-carotene to prevent basal-cell and squamous-cell cancers of the skin*. The Skin Cancer Prevention Study Group, N Engl J Med, 1990 Sep 20, 323(12): 789-795.
21. Greenberg ER, et al., *The Skin Cancer Prevention Study: design of a clinical trial of beta-carotene among persons at high risk for nonmelanoma skin cancer*, Controlled Clin Trials, 1989 Jun, 10(2): 153-166.
22. Greenberg ER, *Retinoids or carotenoids: is there another choice?*, Prev Med, 1993 Sep, 22(5): 723-727. Review.
23. Heinonen OP, et al., *Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene: incidence and mortality in a controlled trial*. J Natl Cancer Inst. 1998 Mar 18; 90(6): 440-446.
24. Hinds TS, et al., *Carotenoids and retinoids: a review of research, clinical, and public health applications*, J Clin Pharmacol. 1997 Jul; 37(7): 551-558. Review.
25. Huttunen JK, *Why did antioxidants not protect against lung cancer in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study?*, IARC Sci Publ, 1996, 136: 63-65.
26. Kelloff GJ, et al., *Clinical development plan: beta-carotene and other carotenoids*, J Cell Biochem Suppl, 1994, 20: 110-140.
27. Liede KE, Alftan G, Hietanen JHP, Haukka JK, Saxen LM, Heinonen OP, *Beta-carotene concentration in buccal mucosal cells with and without dysplastic oral leukoplakia after long-term beta-carotene supplementation in male smokers*, European Journal of Clinical Nutrition, Dec 1998; 52(12):872-876.
28. Lovas JG, et al., *Beta-carotene and lung cancer?*, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1996 Sep, 82(3):236-237.
29. Malone e AA, *Am. J. Clin. Nutr. Review*, 1991, il cui studio ha convalidato l'effetto inibitore del cancro di vitamine antiossidanti e Betacarotene.
30. Malone WF, *Studies evaluating antioxidants and beta-carotene as chemopreventives*, Am J Clin Nutr, 1991 Jan, 53(1 Supp) 305S-313S. Review.
31. Marwick C, *Trials reveal no benefit, possible harm of beta carotene and vitamin A for lung cancer prevention*, JAMA, 1996 Feb 14, 275(6): 422-423.
32. Mayne ST, et al., *Beta-Carotene and lung cancer promotion in heavy smokers – a plausible relationship?*, J Natl Cancer Inst. 1996 Nov 6; 88(21): 1513-1515.
33. McClinton-Adams JL, et al., *Cancer prevention with beta carotene*, Ann Pharmacother, 1994 Apr, 28(4): 470-472. Review.
34. Nierenberg DW, et al., *Determinants of plasma levels of beta-carotene and retinol*. Skin Cancer Prevention Study Group, Am J Epidemiol. 1989 Sep; 130(3): 511-521.
35. Nowak R, *Cancer prevention, Beta-carotene: helpful or harmful?*, Science, 1994 Apr 22, 264(5158): 500-501.
36. Olson A, *Carotenoidi e salute*, Archivos Latinoamericanos de Nutricion.
37. Omaye ST, et al., *Beta-carotene: friend or foe?*, Fundam Appl Toxicol. 1997 Dec; 40(2): 163-174. Review.

38. Omenn e AA, *IARC Sci Publ.*, “Chemioprevenzione del cancro polmonare: studio clinico sull’efficacia di betacarotene e retinoidi in fumatori ad alto rischio e operai esposti all’amianto.”, 1996.
39. Omenn GS et al., *Recruitment for the beta-carotene end retinol efficacy trial (CARET) to prevent lung cancer in smokers and asbestos-exposed workers*, *West J Med*, 1992 May, 156(5): 540-544.
40. Omenn GS, *A double-blind randomized trial with beta-carotene and retinol in persons at high risk of lung cancer due to occupational asbestos exposures and/or cigarette smoking*, *Public Health Rev.*, 1988, 16(1-2): 99-125.
41. Omenn GS, et al., *Chemoprevention of lung cancer: the beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET) in high-risk smokers and asbestos-exposed workers*, *IARC Sci Publ*, 1996, 136: 67-85.
42. Palan PR, et al., *Plasma concentrations of micronutrients during a nine-month clinical trial of beta-carotene in women with precursor cervical cancer lesions*. *Nutl Cancer*. 1998; 30(1): 46-52.
43. Prabhala RH, et al., *The effects of 13-cis-retinoic acid and beta-carotene on cellular immunity in humans*, *Cancer*, 1991 Mar 15, 67(6): 1556-1560.
44. Rapola JM, et al., *Randomized trial of alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infraction*, *Lancet*. 1997 Jun 14; 349(9067): 1715-1720.
45. Rock CL, *Carotenoids: biology and treatment*. *Pharmacol Ther*. 1997 Sep; 75(3): 185-197. Review.
46. Rowe PM, *Beta-carotene takes a collective beating*, *Lancet*. 1996 Jan27; 347(8996): 249.
47. Salgo MG, Cueto R, Winston GW, *Beta-carotene and its oxidation products have different effects on microsome mediated binding of benzo[a]pyrene to DNA*, *Free Radical Biology and Medicine*, Jan 1999; 26(1-2): 162-173.
48. Sankaranarayanan R, et al., *Chemoprevention of oral leukoplakia with vitamin A and beta carotene: an assessment*, *Oral Oncol*. 1997 Jul; 33(4): 231-236.
49. Schalch W., et al., *Vitamins and carotenoids - a promising approach to reducing the risk of coronary heart disease, cancer and eye diseases*, *Adv Exp Med Biol*, 1994, 366: 335-350. Review.
50. Sing e AA, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991, hanno evidenziato il ruolo del Betacarotene e delle vitamine antiossidanti nel ridurre il rischio d’involuzioni maligne di lesioni pretumorali.
51. Singh VN, e al., *Premalignant lesions: role of antioxidant vitamins and beta-carotene in risk reduction and prevention of malignant transformation*, *Am J Clin Nutr*, 1991 Jan, 53(1 Suppl): 386S-390S. Review.
52. Smith TAD, *Carotenoids and cancer: prevention and potential therapy*, *British Journal of Biomedical Science*, Dec 1998; 55(4): 268-275.
53. Stich HF, et al., *Reduction with vitamin A and beta-carotene administration of proportion of micronucleated buccal mucosal cells in Asian betal nut and tobacco chewers*, *Lancet*, 1984 Jun 2; 1(8388): 1204-1206.
54. Thornquist MD, et al., *Participation and adherence among older men and women recruited to the Beta-carotene and Retinol Efficacy trial (CARET)*, *Gerontologist*, 1991 Oct, 31(5):593-597.
55. Thornquist MD, et al., *Research cost analyses to aid in decision making in the conduct of a large prevention trial, CARET. Carotene and Retinol Efficacy Trial*, *Control Clin Trials*, 1993 Aug, 14(4): 325-339.
56. Toma S, et al., *Effectiveness of beta-carotene in cancer chemoprevention*, *Eur J Cancer Prev*, 1995 Jun, 4(3): 213-224. Review.
57. Totter JR, *Beta-Carotene and the prevention of cancer*, *Science*. 1994 Oct 7, 266(5182): 15-16.
58. Vainio H, et al., *An international evaluation of the cancer preventive potential of carotenoids*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1998 Aug; 7(8): 725-728.
59. Vilenchik MM, *Beta-Carotene and the prevention of cancer*, *Science*. 1994 Oct 7; 266(5182): 14-15.

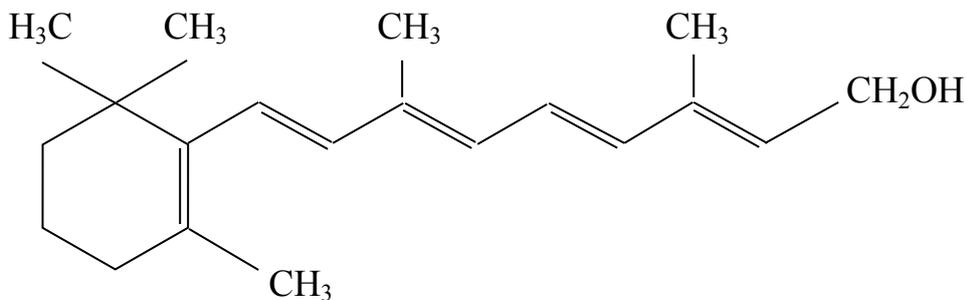
60. Ziegler J., *Nutr. Review*, 1989, che ha condotto uno studio epidemiologico riconoscendo l'evidenza dell'azione antitumorale del betacarotene, dal titolo "A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer."
61. Ziegler RG, *A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer*, *J Nutr.* 1989 Jan, 119(1): 116-122. Review.
62. Ziegler RG, *Carotenoids, cancer, and clinical trials*, *Ann N Y Acad Sci*, 1993 Dec 31, 691: 110-119. Review.

Vitamina A

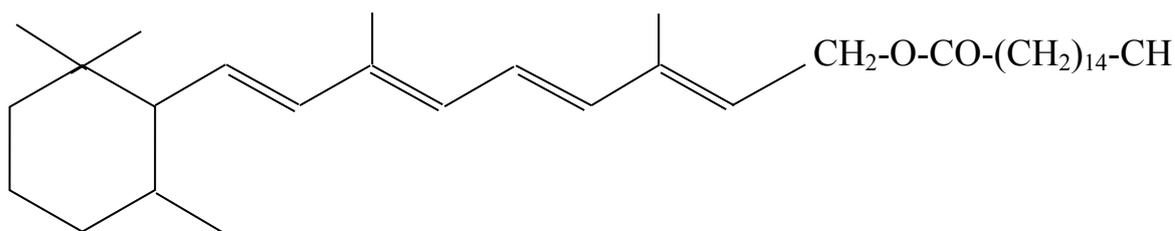
Retinolo (A1)



Axeroftolo palmitato



Retinolo palmitato.



Anche l'impiego della vit. A nella prevenzione e nel trattamento dei tumori, iniziato oltre 30 anni fa dal prof. Di Bella, è documentato da un ampio e crescente riscontro nella letteratura

mondiale di cui diamo qualche cenno. Piedrafita (11), *Moll. Cell. Biol*, 1997, ha documentato l'effetto d'induzione all'apoptosi della vit. A e dei retinoidi, attraverso l'attivazione di enzimi cellulari proteolitici, le Caspasi. La degradazione del fattore della trascrizione generale Sp-1, provoca la morte cellulare della cellula neoplastica per apoptosi.

Tra gli studi sull'effetto di prevenzione antitumorale della vit. A. Hennekens e AA (3), "Vit. A analogues in cancer chemoprevention", *Important Adv. Oncol*, 1986. Kelloff e AA (6), "New agents in cancer chemoprevention", *J. Cell. Biochem Suppl*, 1996. Lippman e AA (8), "Vit. A derivatives in the prevention and treatment of human cancer", *J. Am. Coll Nutr.*, 1988. Redlich e AA (14), "Vit. A chemoprevention of lung cancer", *Biol. Adv. Exp. Med.*, 1995. Thiberville e AA (16), "Vit. A derivatives and prevention of bronchial cancers", *Rev. Mal. Respir. French*, 1996.

Una trattazione esauriente degli effetti antitumorali della vit. A si trova anche nelle pubblicazioni di Israel e AA (4), "Vit. A and cancer", *Pathos Biol. French.*, 1980. Pozzi e AA (13), "Uso clinico della vit. A ed E in ginecologia", *Acta vitaminol Enzymol*, 1985. Samet e AA (15) hanno condotto uno studio epidemiologico evidenziando come lo scarso apporto alimentare di vit. A favorisca i tumori polmonari - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1985. Mettlin (9), "Studi epidemiologici sull'azione della vit. A nel cancro", *Adv. Nutr. Res.*, 1984. Barthet e AA (2), "Vit. A and E in digestive cancers", *Acad Sci 3°*, 1989. Moon (10) "Vit. A, retinoids and breast cancer." *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1994.

Bibliografia

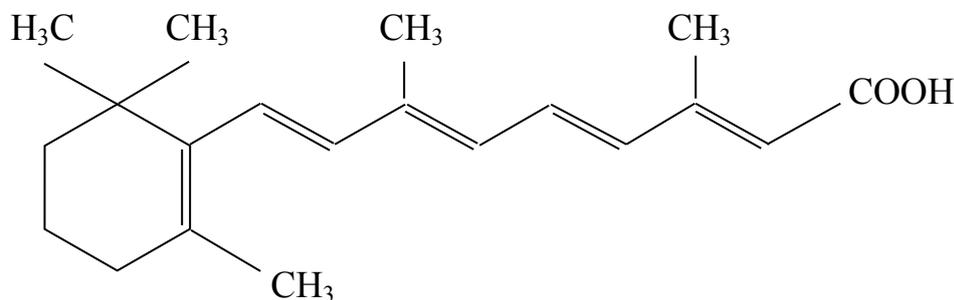
1. [No authors listed], *Clinical development plan: vitamin A*, J Cell Biochem Suppl. 1996; 26; 269-307.
2. Barthet M, et al., [*Vitamins A and E in digestive cancers*], Acad Sci III. 1989; 309(4): 101-104. French.
3. Hennekens CH, *Vitamin A analogues in cancer chemoprevention*, Important Adv Oncol. 1986; : 23-35. Review.
4. Israel L, et al., [*Vitamin A and cancer*], Pathos Biol (Paris).1980 Apr; 28(4):253-259. Review. French.
5. Israel L, et al., [*Vitamin A augmentation of the effects of chemotherapy in metastatic breast cancers after menopause. Randomized trial in 100 patients*], Ann Med Interne (Paris). 1985; 136(7): 551-554. French.
6. Kelloff GJ, et al., *New agents for cancer chemoprevention*, J Cell Biochem Suppl. 1996; 26: 1-28. Review.
7. Lacroix A, et al., *Plasma levels of retinol in cancer patients supplemented with retinol*, Oncology. 1987; 44(2); 108-114.
8. Lippman SM, et al., *Vitamin A derivatives in the prevention and treatment of human cancer*, J Am Coll Nutr. 1998 Aug; 7(4): 269-284. Review.
9. Mettlin C, *Epidemiologic studies on vitamin -a and cancer*, Adv Nutr Res. 1984; 6: 47-65. Review
10. Moon RC, *Vitamin A, retinoids and breast cancer*, Adv Exp Med Biol. 1994; 364; 101-107. Review.
11. Piedrafita, *Moll. Cell. Biol.*, 1997.

12. Peck GL, et al., *Chemoprevention of basal cell carcinoma with isotretinoin*, J Am Acad Dermatol. 1982 Apr; 6(4 Pt 2 Suppl); 815-823.
13. Pozzi V, et al., [*Clinical use of vitamin A and E in gynecology*], Acta Vitaminol Enzymol. 1985; 7 Suppl: 79-83. Italian.
14. Redlich CA, et al., *Vitamin A chemoprevention of lung cancer. A short-term biomarker study*, Adv Exp Med Biol. 1995; 375: 17-29. Review.
15. Samet JM, et al., *Lung cancer risk and vitamin A consumption in New Mexico*, Am Rev Respir Dis. 1985 Feb; 131(2): 196-202.
16. Thiberville L, et al., [*Vitamin A derivatives and prevention of bronchial cancers*], Rev Mal Respir. 1996; 13(2); 193-195. Review. French.

Acido trans-retinoico

Acido 3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetilcicloes-1-enil)nona-2,4,6,8-tutto-trans-tetraenoico, Acido (2E,4E,6E,8E)-3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetilcicloes-1-enil)nona-2,4,6,8-tetraenoico.

C₂₀H₂₈O₂



E' derivato dalla vit. A per sostituzione del gruppo alcolico OH col gruppo carbossilico COOH, da oltre 20 anni fa parte integrante del protocollo antitumorale del Prof. Di Bella (MDB), da qualche anno è stato "scoperto" dalla ricerca medico scientifica ed è oggetto di una serie particolarmente vasta e crescente di studi sia clinici sia sperimentali, che ne hanno confermato, come per gli altri componenti dell'MDB, la piena valenza sia preventiva che terapeutica nelle neoplasie.

Particolarmente numerosi sono i lavori sull'impiego dell'Ac. Retinoico sia nelle forme leucemiche che in diversi tumori solidi, come nella prevenzione. Tra le pubblicazioni relative alle forme leucemiche ricordiamo Adamson e AA (1, 2), *Semin. Ematol.*, 1994, che hanno utilmente impiegato l'Ac retinoico nella leucemia acuta promielocitica. Studio analogo, con un

approfondimento del meccanismo d'azione dell'Ac. retinoico è stato effettuato da Cornic e AA, Bull. Cancer, 1992. Dulaney e AA (16), "Uso dell'Ac Trans. Retinoico nella leucemia promielocitica acuta", *Ann Pharmacother*, 1993. Eardley e AA (17), *Leucemia*, 1994, ha ottenuto con l'Ac retinoico la remissione di leucemie promielocitiche acute e ne ha comparato gli effetti terapeutici con la chemio. Frankel (22), *Oncology*, 1992, ha studiato il meccanismo recettoriale d'azione dell'Ac. Retinoico nella leucemia promielocitica acuta. Fukutani e AA (23), *Leucemia*, 1995, hanno approfondito gli effetti recettoriali e sulla trascrizione genica dell'Ac Retinoico nelle leucemie. Hassan e AA (25), *Cancer Chemoter Pharmacol*, 1990, ha studiato, insieme ad altri principi terapeutici l'effetto dell'Ac Retinoico nelle leucemie mieloidi acute, documentando l'effetto di ridifferenziazione dei blasti e delle cellule tumorali. Li J. e AA (35), *Leuk Res*, 1992, hanno confermato l'induzione alla ridifferenziazione dell'Ac Retinoico e altri principi attivi nelle leucemie mielomonocitiche. Miller e AA (42), *Important Adv Oncol*, 1993, hanno approfondito i meccanismi d'azione recettoriali dell'Ac Retinoico nel trattamento della leucemia acuta promielocitica. Sacchi e AA (51), *Haematologica*, 1997, hanno esteso lo studio e la risposta all'impiego dell'Ac retinoico a varie patologie tumorali maligne ematologiche. Tallman (57, 58, 59) in diverse pubblicazioni (*Semin. Hematol* 1994, *Leucemia* 1996, *Blood Rev* 1994)9 ha documentato l'effetto terapeutico dell'Ac Retinoico nella leucemia mieloide acuta, in quella promielocitica e in varie altre forme leucemiche.

Questo piccolo campione di una letteratura particolarmente vasta sulle indicazioni dei retinoidi nelle forme leucemiche, è caratterizzata da una notevole uniformità e concordanza circa la loro efficacia e tollerabilità, particolarmente rilevanti se comparate alla chemioterapia.

Relativamente ai tumori solidi gli studi si estendono a quasi tutte le forme tumorali e localizzazioni neoplastiche. Tra i lavori relativi alle neoplasie delle vie respiratorie: Arnold (5), *J. Natl. Canc. Inst.*, 1994, ha studiato la risposta al trattamento con Ac Retinoico e Interferone dei tumori polmonari non a piccole cellule. Lee e AA (33), *J Clin Invest*, 1998, hanno evidenziato il meccanismo d'azione antitumorale dell'Ac retinoico nei carcinomi broncopolmonari, attraverso la soppressione della trascrizione genica di fattori oncogeni e l'effetto antiproliferativo. Gli stessi autori hanno pubblicato su *J. Clin Oncol*, 1994, uno studio clinico randomizzato che conferma l'effetto di prevenzione dell'Ac. Retinoico nelle metaplasie squamose bronchiali pretumorali. Ravi e AA (49), *Oncol. Rep.*, 1998, hanno pubblicato uno studio sull'effetto dell'Ac Retinoico nei tumori polmonari a piccole cellule. Zhang e AA (65), *Mutat Res*, 1996, hanno studiato l'effetto terapeutico dell'Ac Retinoico nei tumori del polmone e in quelli della mammella, evidenziando il meccanismo d'azione recettoriale.

Tra le pubblicazioni relative all'apparato genitourinario ricordiamo: Carter (10), *Anticancer Res*, 1996, ha documentato l'effetto differenziante e di riconversione alla normalità di cellule di adenocarcinoma umano dell'endometrio. Meyskens e AA (41), *J Am. Acad Dermatol*, 1986, ha descritto i vantaggi dell'applicazione dell'Ac retinoico localmente sulle lesioni precancerose della cervice uterina. Band e AA (6), *Prog Clin Biol Res*, 1990, ha studiato l'effetto terapeutico dei retinoidi nei tumori della mammella. Brawley (9), *Urology* 1994, ha documentato l'effetto preventivo dei retinoidi nel cancro alla prostata. De Vos e AA (15), *Prostate* 1997, hanno evidenziato come l'effetto antiproliferativo dell'Ac Retinoico nei tumori prostatici si realizzi attraverso l'attivazione di recettori specifici X. Eward (19), *Sweiz Med Wochenschr.* 1972, è l'autore di una delle prime pubblicazioni circa l'efficacia dell'Ac retinoico nelle papillomatosi vescicali recidivanti. Pedersen (48), *Scand. J. Urol. Nephrol.* 1994, ha confermato l'utilità dell'impiego dei retinoidi sia nella profilassi che nel trattamento dei tumori recidivanti non invasivi della vescica.

Probabilmente la mole maggiore di studi riguarda l'effetto preventivo di Ac, retinoico e retinoidi, praticamente in ogni forma, localizzazione, varietà di lesioni precancerose: Huber (29), *Curr. Probl. Cancer* 1994, ha evidenziato gli effetti preventivi dei retinoidi nelle forme tumorali della testa e del collo. Benner e AA (7), *Chest* 1995, hanno pubblicato diversi lavori sull'effetto preventivo dei retinoidi nei tumori polmonari. Hong e AA (26), *Otolaryngol Clin North. Am.* 1985, hanno evidenziato l'effetto preventivo nei tumori della testa e del collo. Lippman (36), *Cancer Res* 1994, ha studiato l'effetto preventivo dei retinoidi nei tumori delle vie respiratorie e polmonari. Moriwaki e AA (44), *Nutr. Sci. Vitaminol* 1992, hanno confermato l'effetto dei retinoidi in vari tumori solidi. Seigel e AA (53), *Ann. Epidemiol.* 1992, hanno condotto uno studio clinico sull'effetto antitumorale di retinoidi e Selenio. Papadimitrakopoulou e AA (45) hanno evidenziato l'effetto di prevenzione dei retinoidi nei tumori della testa e del collo. Van Der Leede (62), *Ned Tijdschr Geneeskde* 1997, confermano ulteriormente i dati della letteratura nella pubblicazione "Retinoids: use in combatin cancer". Anche sull'effetto preventivo vi è un vasto consenso nella letteratura scientifica.

Sulle indicazioni dell'Ac Retinoico in neoplasie cerebrali hanno pubblicato tra gli altri: Redfern (50), *Eur. J. Cancer* 1995, che ha evidenziato l'azione dell'acido retinoico sull'espressione genica del neuroblastoma e la sua attività di differenziazione. Seeger e AA (52), *Ann Intern. Med.*, hanno evidenziato la risposta clinica terapeutica dell'Ac retinoico e degli anticorpi monoclonali nel neuroblastoma.

Numerosi sono anche gli studi sull'efficacia dei retinoidi nei tumori della pelle. Tra questi: Bollag (8), *J. Am. Acad. Dermatol.* 1983, ha condotto sia studi sperimentali che clinici

confermandone l'efficacia dei retinoidi nei tumori della pelle. Thorne e AA (61), *Br. J. Dermatol* 1992, hanno pubblicato effetti terapeutici evidenti mediante l'uso topico a lungo termine di retinoidi in lesioni cancerose cutanee. Epstein e AA (18), *-J Am. Acad. Dermatol* 1986, hanno evidenziato gli effetti positivi dell'Acido Retinoico nei tumori cutanei. Kessier e AA (30), *Arch. Dermatol* 1987, hanno pubblicato l'efficacia dell'Ac. Retinoico sulle lesioni cutanee da linfoma maligno (Mycosi Fungoide). Lippman (37), *Ann. Intern. Med.* 1987, ha registrato l'efficacia dell'Ac retinoico anche nelle forme avanzate di carcinoma squamoso della pelle. Noble (45), *Drugs Aging*, 1995, ha illustrato le proprietà farmacologiche e l'effetto clinico favorevole nell'uso topico di Ac. Retinoico in lesioni della cute. Il dato è pienamente confermato dal lavoro pubblicato da Peck e AA (47), "Topical Tretionin in Actinic Keratosis and basal carcinoma". Mc Cormick e AA (39), *Carcinogenesis* 1990, mediante uno studio sperimentale su ratti, hanno evidenziato l'efficacia dell'Ac. Retinoico e due retinoidi di sintesi, nell'epatocarcinoma. Meyskens e AA (40) hanno studiato l'effetto inibente topico dell'Ac Retinoico sulle lesioni tumorali della pelle e sui melanomi.

Anche nei tumori della testa e del collo retinoidi e Ac Retinoico hanno dato risposte terapeutiche chiaramente positive in assenza (a differenza della chemioterapia) di effetti collaterali rilevanti: Fountzilias (21), "I retinoidi nel trattamento dei tumori della testa e del collo", *J. Chemoter* 1994. Surwit (56), *Am. J. Obstet Gynecol* 1982, ha illustrato l'efficacia di applicazioni topiche di Ac. Retinoico, nel trattamento delle lesioni tumorali cervicali intraepiteliali. Shalinsky (54), *Cancer Res* 1997, ha illustrato l'efficacia, definendola "potente" di Ac. retinoici di sintesi in cellule di carcinoma squamoso umano. Majewski (38), *Int. J. Cancer* 1994, evidenzia l'effetto anti angiogenetico dell'Ac. retinoico.

Questa breve sintesi delle numerosissime pubblicazioni sul tema, toglie ogni dubbio circa la razionalità matematica e le indicazioni all'impiego dei retinoidi nelle neoplasie, confermando pienamente l'esattezza e l'efficacia del MDB, che ha anticipato di circa 20 anni le recenti acquisizioni medico scientifiche sul tema. In sintesi il razionale della MDB relativamente ai retinoidi e le loro indicazioni nelle patologie neoplastiche poggiano su questi dati acquisiti e consolidati:

- Attività antiossidante, citostatica e di prevenzione dello sviluppo tumorale.
- Inibizione della mutagenesi. Cioè inibizione della trasformazione di cellule normali in cancerose, attraverso un'azione pro-differenziante. I retinoidi mantengono "differenziate", normali le cellule sane, favoriscono la riconversione alla normalità e ridifferenziano cellule che tendono a divenire "indifferenziate", neoplastiche o lo sono già.
- Antiproliferativa di cellule tumorali.
- Inibiscono l'angiogenesi in tessuti tumorali.

- Pro-apoptotica, induce la morte cellulare programmata in cellule cancerose.
- Antiossidante.
- Antimetastatica, attraverso l'attivazione dell'adesività intercellulare e l'inibizione del passaggio delle cellule attraverso le barriere naturali di contenimento dell'ivasiività metastatica come l'EMC, di cui impediscono lisi e superamento.
- Incremento del trofismo cellulare, particolarmente esaltato a livello degli epiteli dell'immunità naturale e della risposta delle cellule NK.

Bibliografia

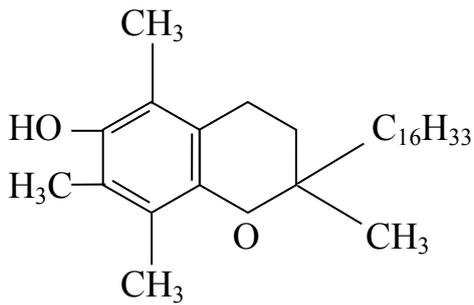
1. Adamson PC, *Clinical and pharmacokinetic studies of all-trans-retinoic acid pediatric patients with cancer*, Leukemia. 1994; 8 Suppl 3: S22-S25.
2. Adamson PC, *Clinical and pharmacokinetic studies of all-trans-retinoic acid in pediatric patients with cancer*, Leukemia. 1994 Nov; 8(11): 1813-1816. Review.
3. Adamson PC, *Pharmacokinetics of all-trans-retinoic acid: clinical implications in acute promyelocytic leukaemia*, Semin Hematol. 1994 Oct; 31(4 Suppl 5): 14-17. Review.
4. Argawal R, et al., *Protection against malignant conversion in SENCAR mouse skin by all trans retinoic acid: inhibition of the ras p21-processing enzyme farnesyltransferase and Ha-ras p21 membrane localization*, Mol Carcinog. 1996 Sep; 17(1): 13-22
5. Arnold A, et al., *Phase III trial of 13-cis-retinoic acid plus interferon alpha in non-small-cell lung cancer. The National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group*, J Natl Cancer Inst. 1994 Feb !6; 86(4): 306-309.
6. Band PR, et al., *Retinoids and breast cancer*, Prog Clin Biol Res. 1990; 354A; 361-377.
7. Benner SE, et al., *Current status of retinoid chemoprevention of lung cancer*, Oncology (Huntingt). 1995 Mar; 9(3): 205-210. Review.
8. Bollag W, *The development of retinoids in experimental and clinical oncology and dermatology*, J Am Acad Dermatol. 1983 Nov; 9(5): 797-805.
9. Brawley OW, et al., *Chemoprevention of prostate cancer*, Urology. 1994 May; 43(5): 594-599. Review.
10. Carter CA, et al., *Effects of retinoic acid on cell differentiation and reversion toward normal in human endometrial adenocarcinoma (RL95-2) cells*, Anticancer Res. 1996 Jan; 16(1): 17-24.
11. Cheson BD, *Clinical trials referral resource. Clinical trials with all-trans-retinoic acid*, Oncology (Huntingt). 1992 Apr; 6(4): 67-68.
12. Cornic M, et al., *[Mechanism of action of retinoids in a new therapeutic approach to acute promyelocytic leukemia]*, Bull Cancer. 1992; 79(7): 697-704. Review. French.
13. Cornic M, et al., *In vitro all-trans retinoic acid (ATRA) sensitivity and cellular retinoic acid binding protein (CRABP) levels in relapse leukemic cells after remission induction by ATRA in acute promyelocytic leukaemia*, Leukemia. 1994; 8 Suppl 2: S16-S19. Review.
14. Cornic M, et al., *In vitro all-trans retinoic acid (ATRA) sensitivity and cellular retinoic acid binding protein (CRABP) levels in relapse leukemic cells after remission induction by ATRA in acute promyelocytic leukaemia*, Leukemia. 1994 Jun; 8(6): 914-917. Review.
15. de Vos S, et al., *Effects of retinoid X receptor-selective ligands on proliferation of prostate cancer cells*, Prostate. 1997 Jul 1 ; 32(2): 115-121.
16. Dulaney AM, et al., *Use of trans-retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukaemia*, Ann Pharmacother. 1993 Feb; 27(2): 211-214. Review.

17. Eardley AM, et al., *Morbidity and costs of remission induction therapy with all-trans retinoic acid compared with standard chemotherapy in acute promyelocytic leukaemia*, *Leukemia*. 1994 Jun; 8(6): 934-939.
18. Epstein JH, *All-trans-retinoic acid and cutaneous cancers*, *J Am Acad Dermatol*. 1986 Oct; 15(4 pt 2): 772-778. Review.
19. Eward JP, et al., [*Conservative treatment of recurrent papillomatosis of the urinary bladder with vitamin A acid. Preliminary report*], *Schweiz Med Wochenschr*. 1972 Dec 23; 102(51): 1880-1883. German.
20. Fenaux P, *Treatment of newly diagnosed APL. The best choice is not ATRA or chemotherapy ... but a combination of both. European APL Group*, *Leukemia*. 1994; 8 Suppl 2: S59-S61.
21. Fountzilas G, *Retinoids in the management of head and neck cancer. An update*, *J Chemother*. 1994 Apr; 6(2): 127-138. Review.
22. Frankel SR, et al., *Retinoic acid and its rearranged receptor in the etiology and treatment of acute promyelocytic leukaemia*, *Oncology (Huntingt)*. 1992 Aug; 6(8): 74-78. Review.
23. Fukutani H, et al., *Isoforms of PML-retinoic acid receptor alpha fused transcripts affect neither clinical features of acute promyelocytic leukemia nor prognosis after treatment with all-trans retinoic acid. The Leukemia Study Group of the Ministry of Health and Welfare (Kohseisho)*, *Leukemia*. 1995 Sep; 9(9): 1478-1482.
24. Gillis JC, et al., *Tretinoin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and use in the management of acute promyelocytic leukaemia*, *Drugs*. 1995 Nov; 50(5): 897-923. Review.
25. Hassan HT, et al., *Triple combination of retinoic acid plus actinomycin D plus dimethylformamide induces differentiation of human acute myeloid leukaemic blasts in primary culture*, *Cancer Chemother Pharmacol*. 1990; 26(1):26-30.
26. Hong WK, et al., *Chemoprevention of head and neck cancer. Potential use of retinoids*, *Otolaryngol Clin North Am*. 1985 Aug; 18(3): 543-549.
27. Hong WK, et al., *Prevention of second primary tumors with isotretinoin in squamous-cell carcinoma of the head and neck*, *N Engl J Med*. 1990 Sep 20; 323(12): -795-801.
28. Huang ME, et al., *Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukaemia*, *Hamatol Bluttransfus*. 1989; 32: 86-96.
29. Huber MH, et al., *Biology and chemoprevention of head and neck cancer*, *Curr Probl Cancer*. 1994 Mar; 18(2): 81-140. Review.
30. Kessier JF, et al., *Isotretinoin and cutaneous helper T-cell lymphoma (mycosis fungoides)*, *Arch Dermatol*. 1987 Feb; 123(2): 201-204.
31. Kitamura K, et al., [*All-trans retinoic acid therapy in acute promyelocytic leukemia - current status and prospect*], *Rinsho Ketsueki*. 1996 Sep; 37(9): 760-765. Review. Japanese.
32. Kraemer KH, et al., *Prevention of skin cancer in xeroderma pigmentosum with the use of oral isotretinoin*, *N Engl J Med*. 1988 Jun 23; 318(25): 1633-1637.
33. Lee HY, et al., *All-trans retinoic acid converts E2F into a transcriptional suppressor and inhibits the growth of normal human bronchial epithelial cells through a retinoic acid receptor- dependent signaling pathway*, *J Clin Invest*. 1998 Mar 1; 101(5): 1012-1019.
34. Lee JS, et al., *Randomized placebo-controlled trial of isotretinoin in chemoprevention of bronchial squamous metaplasia*, *J Clin Oncol*. 1994 May; 12(5): 937-945.
35. Li J, et al., *Synergistic induction of the differentiation of WEHI-3B D+ myelomonocytic leukemia cells by retinoic acid and granulocyte colony-stimulating factor*, *Leuk Res*. 1992 Jun; 16(6-7): 571-576
36. Lippman SM, et al., *Retinoid chemoprevention studies in upper aerodigestive tract and lung carcinogenesis*, *Cancer Res*. 1994 Apr 1; 54(7 Suppl): 2025S-2028S. Review.

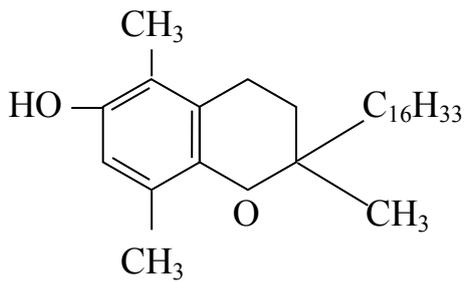
37. Lippman SM, et al., *Treatment of advanced squamous cell carcinoma of the skin with isotretinoin*, Ann Intern Med. 1987 Oct; 107(4): 499-502
38. Majewski S, et al., Synergistic effect of retinoids and interferon alpha on tumor-induced angiogenesis: anti-angiogenic effect on HPV-harboring tumor-cell lines, Int J Cancer. 1994 Apr 1; 57(1): 81-85.
39. McCormick DL, et al., *Enhancement of murine hepatocarcinogenesis by all-trans-retinoic acid and two synthetic retinamides*, Carcinogenesis. 1990 Sep; 11(9): 1605-1609.
40. Meyskens FL Jr, et al., *Clinical experience with topical tretinoin in the treatment of cervical dysplasia*, J Am Acad Dermatol. 1986 Oct; 15(4 Pt 2): 826-829.
41. Meyskens FL Jr, et al., *Role of topical tretinoin in melanoma and dysplastic nevi*, J Am Acad Dermatol. 1986 Oct; 15(4 Pt 2): 822-825.
42. Miller WH Jr, et al., *Retinoic acid and its rearranged receptor in the treatment of acute promyelocytic leukaemia*, Important Adv Oncol. 1993: 81-90. Review.
43. Moore DM, et al., *Retinoic acid and interferon in human cancer: mechanistic and clinical studies*, Semin Hematol. 1994 Oct; 31(4 Suppl 5): 31-37. Review.
44. Moriwaki H, [Prevention and treatment of solid tumors with retinoids], Gan To Kagaku Ryoho. 1996 Oct; 23(12): 1625-1628. Review. Japanese.
45. Noble S, et al., *Tretinoin. A review of its pharmacological properties and clinical efficacy in the topical treatment of photodamaged skin*, Drugs Aging. 1995 Jun; 6(6): 479-496. Review.
46. Papadimitrakopoulou VA, et al., *Retinoids in head and neck chemoprevention*, Proc Soc Exp Biol Med. 1997 Nov; 216(2): 283-290. Review.
47. Peck GL, *Topical tretinoin in actinic keratosis and basal cell carcinoma*, J Am Acad Dermatol. 1986 Oct; 15(4 Pt 2): 829-835.
48. Pedersen H, et al., Administration of a retinoid as prophylaxis of recurrent non-invasive bladder tumors, Scand J Urol Nephrol. 1984; 18(2): 121-123.
49. Ravi RK, et al., *Induction of gastrin releasing peptide by all-trans retinoic acid in small cell lung cancer cells*, Oncol Rep. 1998 Mar; 5(2): 497-501.
50. Redfern CP, et al., *Gene expression and neuroblastoma cell differentiation in response to retinoic acid: differential effects of 9-cis and all-trans retinoic acid*, Eur J Cancer. 1995; 31A(4): 486-494. Review.
51. Sacchi S, et al., *All-trans retinoic acid in hematological malignancies, an update. GER (Gruppo Ematologico Retinoidi)*, Haematologica. 1997 Jan; 82(1): 106-121. Review.
52. Seeger RC, et al., *Neuroblastoma: clinical perspectives, monoclonal antibodies, and retinoic acid*, Ann Intern Med. 1982 Dec; 97(6): 873-684. Review.
53. Seigel DG, Selenium, retinal, retinal-binding protein, and uric acid: from epidemiology to clinical prevention trial, Ann Epidemiol, 1992 May, 2(3): 343-344.
54. Shalinsky DR, et al., A novel acid receptor-selective retinoid, ALRT1550, has potent antitumor activity against human oral squamous carcinoma xenografts in nude mice, Cancer Res. 1997 Jan 1; 57(1): 162-168.
55. Smith MA, et al., *Phase I and pharmacokinetic evaluation of all-trans-retinoic acid in pediatric patients with cancer*, J Clin Oncol. 1992 Nov; 10(11): 1666-1673.
56. Surwit EA, et al., *Evaluation of topically applied trans-retinoic acid in the treatment of cervical intraepithelial lesions*, Am J Obstet Gynecol. 1982 Aug 1; 143(7): 821-823.
57. Tallman MS, *All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia and its potential in other hematologic malignancies*, Semin Hematol. 1994 Oct; 31(4 Suppl 5): 38-48. Review.
58. Tallman MS, *Differentiating therapy with all-trans retinoic acid in acute myeloid leukemia*, Leukemia. 1996 Apr; 10 Suppl 1: S12-S15. Review.

59. Tallman MS, et al., *Acute promyelocytic leukemia: a paradigm for differentiation therapy with retinoic acid*, Blood Rev. 1994 Jun; 8(2): 70-78. Review.
60. Tangrea JA, et al., *Long-term therapy with low-dose isotretinoin for prevention of basal cell carcinoma: a multicenter clinical trial. Isotretinoin-Basal Cell Carcinoma Study Group*, J Natl Cancer Inst. 1992 Mar 4; 84(5): 328-332.
61. Thorne EG, Long-term clinical experience with a topical retinoid, Br J Dermatol, 1992 Sep, 127 Suppl 41, 31-36.
62. van der Leede BM, et al., [*Retinoids: use in combating cancer*], Ned Tijdschr Geneesk. 1997 Nov; 141(24): 1183-1188. Dutch.
63. Vosburgh E, *Pulmonary leukostasis secondary to all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia in first relapse*, Leukemia. 1992 Jun; 6(6): 608-610.
64. Walder S, et al., *All-trans retinoic acid and interferon- α -2a in patients with metastatic or recurrent carcinoma of the uterine cervix: clinical and pharmacokinetic studies. New York Gynecologic Oncology Group*, Cancer. 1997 Apr 15; 79(8):1574-1580.
65. Zhang XK, et al., *Retinoid receptors in human lung cancer and breast cancer*, Mutat Res. 1996 Feb 19; 350(1): 267-277. Review.

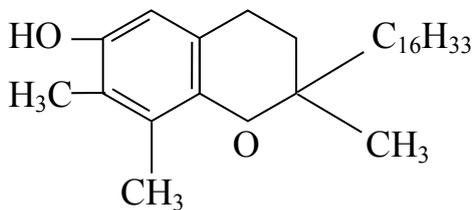
Vitamina E



α -tocoferolo (5, 7, 8 trimetiltocolo)



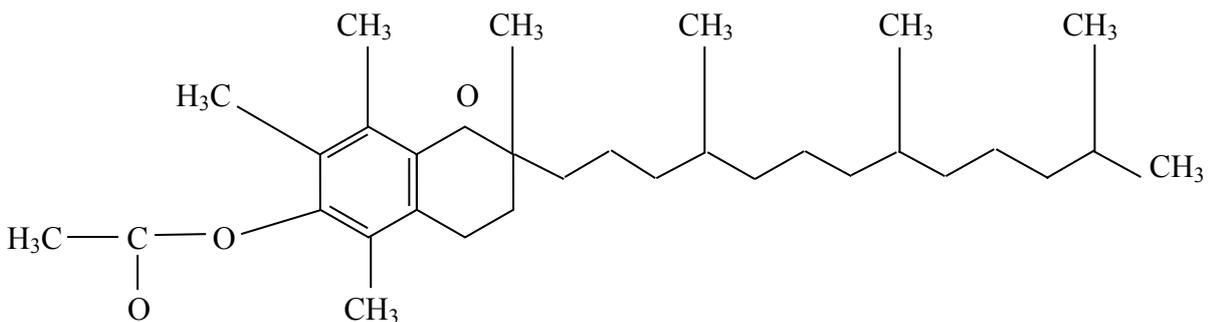
β -tocoferolo (5, 8-dimetiltocolo)



γ -tocoferolo (7, 8-dimetiltocolo)

D,1 - α - Tocoferil acetato

3,4-Diidro-2,5,7,8-tetrametil-2-(4,8,12-trimetiltridecil)-2H-benzopiran-6-olo acetato; (2RS, 4'R,8'R)-2,5,7,8-Tetrametil-2-(4',8',12'-trimetiltridecil)-6-cromanile acetato.



Esistono in natura quattro varietà di vit. E, strettamente correlate da un punto di vista chimico, con attività fisiologica simile, definite Tocoferoli e contraddistinte con le lettere dell'alfabeto greco, alfa, beta, gamma, delta. Esse differiscono per il numero e la posizione di gruppi chimici CH₃ definiti metilici. Tra i tocoferoli, la massima attività biologica è svolta dall'Alfa-Tocoferolo, comunemente definito vit. E., che possiede una formidabile attività antiossidante e antiradicali liberi. Recentemente sono stati isolati diversi altri tocoferoli, che possono essere preparati per sintesi, o estratti da prodotti naturali, tra cui soprattutto l'olio di germe di grano. La grave carenza di vit. E si manifesta soprattutto a livello della funzione riproduttiva, con sterilità sia nel maschio che nella femmina. E' stata dimostrata anche una primaria funzione antidegenerativa della vit. E a livello del tessuto nervoso sia centrale che periferico, muscolare e vascolare. Pertanto le azioni della vit. E si estendono a tutte le funzioni vitali, non è solo la vitamina della fecondità, ma un fattore generale del metabolismo, indispensabile per la normale funzione di tutti gli organi. Il meccanismo d'azione della vit. E, essendo particolarmente vasto e complesso è tuttora oggetto di studio e si è rivelato essenziale per la vita. I ruoli fondamentali sarebbero sia come antiossidante che come componente di sistemi enzimatici essenziali come la Cromo -C- Reduttasi e del metabolismo di quegli acidi nucleici, che essendo componenti del nucleo cellulare, interferiscono con tutte le funzioni vitali. In natura esistono diversi antiossidanti, ma mentre alcuni, in certe situazioni, possono sostituire la vit. E, in altre situazioni essa si rivela insostituibile nella funzione antiossidante. Come costituente di sistemi enzimatici la vit. E influisce direttamente su di un passaggio chiave degli scambi energetici e della vita stessa: sul trasporto degli elettroni nella catena respiratoria. Per sottolineare l'importanza dell'azione antiossidante, basti pensare che in presenza di vit. E, acidi grassi insaturi vitali, vit. A, Ac Retinoico, Carotenoidi, possono avere un'esaltazione fino al raddoppiamento dell'attività e dell'efficacia biologica. Questa è la spiegazione logica e conferma la razionalità dell'inserimento di alte dosi di vit. E nel composto vitaminico antitumorale M.D.B. Nella catena eziopatogenetica dei tumori è ormai comunemente nota l'incidenza dei radicali liberi, ormai ritenuti tra i maggiori responsabili della carcinogenesi. Proprio sui radicali liberi la vit. E dimostra la massima attività svolgendo una formidabile azione di prevenzione antitumorale, antidegenerativa e antinfiammatoria. In dosi di 90-100 mg per Kg di Peso corporeo la vit. E praticamente azzerava i radicali liberi. Tutte le nostre reazioni in ultima analisi, sotto il profilo metabolico, si riducono ad un'ossidazione, nel corso della quale, si liberano momentaneamente, per una durata che può essere di un decimilionesimo di secondo, dei composti, i cosiddetti "radicali liberi", che hanno un'enorme attività chimica. Pur avendo vita brevissima, sono eccezionalmente attivi e pertanto possono essere gravemente dannosi. Proprio perché questi composti si trovano soprattutto in corrispondenza della membrana cellulare esercitano il danno più grave. Infatti la

membrana cellulare rappresenta la barriera attraverso cui transita tutto ciò che è vitale per la cellula e da cui fuoriesce tutto il prodotto del metabolismo cellulare, pertanto essa rappresenta un sistema di controllo di tutti gli scambi, regolandone natura, entità qualità modalità durata. Quindi queste sostanze, che avendo delle cariche si chiamano radicali, e si dicono libere perché non legate a molecole, nel giro di decimilionesimi di secondo, possono creare dei disastri a livello delle membrane cellulari. Possono rompere molecole, creare nuovi legami, alterare e sovvertire la struttura della membrana cellulare. Proprio per la sua struttura chimica, la vit. E, in natura, ha la massima capacità di inattivare i radicali liberi, se somministrata a dosi di 90-100 mg per ogni Kg di peso corporeo. Ciò in totale assenza di pericolo di accumulo, di tossicità o di sovradosaggio, che non trova riscontro nella letteratura medico-scientifica mondiale.

Si possono così sintetizzare le azioni con cui interviene la vit E sia nella prevenzione che terapia delle patologie neoplastiche:

- Antiradicali liberi, antiossidante, in ciò sinergica, con potenziamento dell'azione di vit C, retinoidi, Melatonina, Selenio-Metionina.
- Pro-differenziante, con azione sinergica alla vit D e derivati, retinoidi, Melatonina.
- Antiproliferativa, sinergica a Somatostatina-Octreotide, Melatonina, Bromocriptina, Retinoidi, Vit D.
- Pro-apoptotico, sinergica a Retinoidi, vit D, Somatostatina-Octreotide, Melatonina
Ciclofosfamide (usata in micro dosi nel protocollo M.D.B., con dosaggi di 50 milligrammi, mai comunque superiori a 100 mg, contro diversi grammi di Ciclofosfamide, somministrati anche per via endovenosa, fino a dosi di 10-12 grammi in certi protocolli oncologici. In termini di rapporti fra la terapia Di Bella e la chemio, in quest'ultima vengono impiegati dosaggi di Ciclofosfamide fino a 220-DUECENTOVENTI superiori rispetto all'MDB, sovvertendo completamente il meccanismo d'azione farmacologico, che con 50-100 mg induce la cellula neoplastica all'apoptosi, pertanto attiva un processo, fisiologico, non tossico, di difesa antitumorale naturale, mentre in dosi moltiplicate ha un effetto gravemente citotossico e citolitico, portando alla rapida distruzione per lisi cellulare.

Queste quattro azioni della vit. E sono confermate da un ampio riscontro nella letteratura internazionale, di cui riportiamo una breve sintesi. Turley e AA, nel 1997, hanno pubblicato su *Cancer Research* uno studio sperimentale in vitro su linee cellulari di tumore alla mammella MDA-MB, messe a contatto con concentrazioni crescenti di vit E, notando che le cellule esposte a vit. E

andavano incontro a morte per apoptosi in percentuali dose-dipendenti. Pertanto non solo è stato evidenziato l'aspetto pro apoptotico, ma la sua efficacia direttamente proporzionale alla dose. Gli stessi autori hanno pubblicato studi sulla capacità della vit. E d'indurre apoptosi in cellule di linfoma maligno B. Dall'insieme di questi studi emergono anche meccanismi d'azione della vit. E antitumorali sull'espressione e trascrizione genica. Infatti la vit E ha provocato un incremento di mRNA di Fas L e Fas, e delle proteine Fas L e Fas. Il legame della vit. E con Fas determina la frammentazione del DNA per attivazione della caspasi (sistemi enzimatici cisterna-proteasi che attivano i meccanismi apoptotici). Altro meccanismo d'azione antitumorale pro apoptotico della vit. E consiste nell'induzione del TGF-beta (fattore naturale di necrosi delle cellule tumorali). Nel 1998 Gey pubblicava su *Review*, uno studio epidemiologico sull'effetto preventivo di vit. E + C, nelle malattie vascolari e neoplastiche.

Risale al 1985 uno studio clinico di Ernster e AA, affidabile perché randomizzato e in doppio cieco, sull'effetto preventivo della vit. E sulle lesioni pretumorali della mammella, pubblicato su *Surgery*. I dati trovano concordi altri autori tra cui Pozzi, *Acta vitaminol Enzymol*, 1985 e *London Cancer Res.*, 1981. Si deve a Wolf uno studio "Vit E: the radical protector" con una trattazione ampia ed esauriente delle proprietà antiradicali della vit. E, pubblicato su *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol*. Nel 1990 l'effetto preventivo della vit. E nei tumori della mammella veniva pubblicato da Meyer e AA su *Surgery*, mentre Barthelet ha pubblicato su *C.R.A cad. Sci -3°- French* l'effetto terapeutico sinergico di vit. A +E nei tumori dell'apparato digerente. Rilevante è lo studio clinico di Heinonen e AA, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1998, sull'uso sinergico di Betacarotene e vit E nei tumori prostatici, perché condotto su un numero vastissimo di pazienti, esattamente 29.133 per un numero di anni oscillante tra 5 e 8, con una riduzione del 40% dei tumori evidenti nei pazienti che assumevano la vit. E. Interessante è anche un ampio studio epidemiologico condotto da Launoy sulla popolazione francese, relativo all'incidenza del carcinoma squamoso dell'esofago, che risultava notevolmente ridotto dall'uso sinergico di vit. D, vit. E, pubblicato su *Int. J. Cancer*, 1998. Barton ha studiato la sopravvivenza con l'impiego della vit. E nei tumori prostatici, *J. Clin. Oncol.*, 1998. Tra gli studi che confermano l'evidente effetto preventivo sulle neoplasie della vit E la pubblicazione di Knekt "Role of vit. E in the prophylaxis of cancer", *Review*, 1991 e di Malone e AA sull'effetto preventivo antitumorale Vit. E + Betacarotene, *Review*, 1991. Un'ulteriore conferma nella sua chiara evidenza deriva dalla pubblicazione di Sigounas e AA, *Nutr. Cancer*, 1997, dal significativo titolo "La vit. E induce l'apoptosi nelle cellule cancerose dell'eritroleucemia, del cancro della prostata e della mammella. Oltre l'effetto pro apoptotico gli autori sottolineano "una generale inibizione sulla crescita delle cellule tumorali".

Mentre a livello molecolare viene perfettamente confermato quanto sostenuto da Turley: l'induzione di reazioni che portano progressivamente all'attivazione delle caspasi e alla frammentazione del DNA con successiva apoptosi. Alcuni autori hanno evidenziato affetti antitumorali della vit. E a livello di lesioni della bocca e di displasie pretumorali, tra essi Barth e AA, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 1997, e Nieremberg e AA, *M. J. Clin. Nutr.*, 1997.

Sono interessanti anche gli studi di Livrea e AA sul potenziamento reciproco di vit. E e melatonina. Hanno una funzione antiossidante e antidegenerativa delle membrane cellulari. Sperimentalmente gli autori hanno dimostrato che la vit. E elimina i radicali liberi indotti da 2-amidinopropano-idrocloride, ne consegue l'effetto preventivo antiblastico della vit. E per eliminazione del danno perossidativo da carcinogeni chimici e radiazioni ionizzanti sulle membrane cellulari. Dato evidenziato da Pianezza nella sua monografia "Cancro, oltre la chemioterapia", *Ed Raphael*, 1998.

Una vasta letteratura conferma anche l'effetto antidegenerativo della vit. E sul sistema nervoso: Diplock, *Free Radic. Res.*, 1997, e sull'apparato vascolare e cardiocircolatorio Rapola, *Lancet* 1997.

Per tutti questi motivi il Prof. Di Bella ha inserito la vit. E nel suo Metodo antitumorale individuando inoltre in essa il solvente ideale del suo composto vitaminico: essa infatti oltre che essere un elemento prezioso per la prevenzione e la terapia, rappresenta un solvente ideale per la vit. A, Ac. Retinoico, Betacarotene, che preserva dall'ossidazione, esaltandone le già rilevanti attività biologiche, il tutto in totale e documentata assenza di controindicazioni e/o tossicità, a ulteriore conferma della solidità e della validità scientifica dei presupposti chimici, biochimici, farmacologici, fisiologici, clinico terapeutici dell'M.D.B. Sulla vit. E esiste una vasta letteratura mondiale di cui si riporta una breve sintesi bibliografica

Bibliografia

1. Albanes D, et al., *Alpha-Tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study: effects of base-line characteristics and study compliance*, Natl Cancer Inst. 1996 Nov 6; 88(21): 1560-1570.
2. Alberts DS, et al., *Genetic screening for colorectal cancer and intervention*, Int J Cancer. 1996 Feb 20; 69(1): 62-63. Review.
3. Alexander JW, *Immunoenhancement via enteral nutrition*, Arch Surg. 1993 Nov; 128(11): 1242-1245.
4. Barth TJ, et al., *Redifferentiation of oral dysplastic mucosa by the application of the antioxidants beta-carotene, alpha-tocopherol and vitamin C*, Int J Vitam Nutr Res. 1997; 67(5): 368-376.
5. Barthelet M, et al., [*Vitamis A and E in digestive cancers*], C R Acad Sci III. 1989; 309(4): 101-104. French.

6. Barton DL, et al., *Prospective evaluation of vitamin E in hot flashes in breast cancer survivors*, J Clin Oncol. 1998 Feb; 16(2):495-500.
7. Beli RA, et al., *An epidemiologic review of dietary intake studies among American Indians and Alaska Natives: implications for heart disease and cancer risk*, Ann Epidemiol. 1997 May; 7(4): 229-240. Review.
8. Berenson M, et al., *Subject-reported compliance in a chemoprevention trial for familial adenomatous polyposis*, J Behav Med. 1989 Jun; 12(3): 233-247.
9. Bertino JR, *Nutrients, vitamins and minerals as therapy*, Cancer. 1979 May; 43(5 Suppl): 2137-2142. Review.
10. Connett JE, et al., *Relationship between carotenoids and cancer. The Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) Study*, Cancer. 1989 Jul 1; 64(1): 126-134.
11. DeCosse JJ, et al., *Effect of wheat fiber and vitamins C and E on rectal polyps in patients with familial adenomatous polyposis*, J Natl Cancer Inst. 1989 Sep 6; 81(17): 1290-1297.
12. Dimery IW, et al., *Phase I trial of alpha-tocopherol effects on 13-cis-retinoic acid toxicity*, Ann Oncol. 1997 Jan; 8(1): 85-89.
13. Diplock, Free Radic. Res., 1997.
14. Ernster VL, et al., *Vitamin E and benign breast disease: a double-blind, randomized clinical trial*, Surgery. 1985 Apr; 97(4): 490-494.
15. Garewal H, et al., *Oral cancer prevention: the case for carotenoids and anti-oxidant nutrients*, Prev Med. 1993 Sep; 22(5): 701-711. Review.
16. Garewal HS, et al., *Emerging role of beta-carotene and antioxidant nutrients in prevention of oral cancer*, Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1995 Feb; 121(2): 141-144 Review
17. Gey KF, *Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer*, Biofactors. 1998; 7(1-2): 113-174. Review.
18. Gey KF, *Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer*, Biofactors. 1998; 7(1-2): 113-174. Review.
19. Gonzalez PM, et al., *Clinical studies in head and neck cancer chemoprevention*, Cancer Metastasis Rev. 1996 Mar; 15(1): 113-118. Review.
20. Halliday GM, et al., *Sunscreens and vitamin E provide some protection to the skin immune system from solar-simulated UV radiation*, Australas J Dermatol. 1998 May; 39(2); 71-75. Review.
21. Heinonen OP, et al., *Prostate cancer and supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene: incidence and mortality in a controlled trial*, J Natl Cancer Inst. 1998 Mar 18; 90(6); 440-446.
22. Huttunen JK, *Why did antioxidants not protect against lung cancer in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study?*, IARC Sci Publ. 1996; 136: 63-65.
23. Kaegi E, *Unconventional therapies for cancer: Vitamins A, C and E. The Task Force on Alternative Therapies of the Canadian Breast Cancer Research Initiative*, CMAJ. 1998 Jun 2; 158(11): 1483-1488.
24. Kelloff GJ, et al., *Clinical development plan: vitamin E*, J Cell Biochem Suppl. 1994; 20: 282-299.
25. Kelloff GJ, et al., *New agents for cancer chemoprevention*, J Cell Biochem Suppl. 1996; 26: 1-28. Review.
26. Khuri FR, et al., *Molecular epidemiology and retinoid chemoprevention of head and neck cancer*, J Natl Cancer Inst. 1997 Feb 5; 89(3): 199-211. Review.
27. Knekt P, et al., *Vitamin E and cancer prevention*, Am J Clin Nutr. 1991 Jan; 53(1 Suppl): 283S-286S. Review.
28. Knekt P, *Role of vitamin E in the prophylaxis of cancer*, Ann Med. 1991 Feb; 23(1): 3-12. Review.

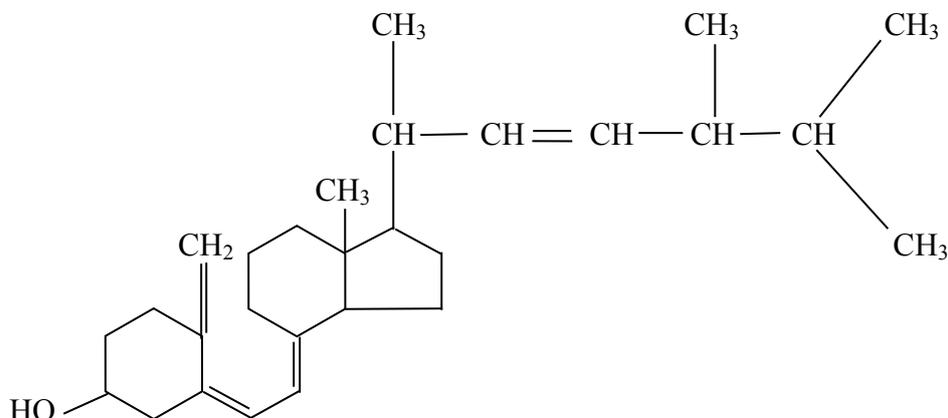
29. Launoy G, et al., *Diet and squamous-cell cancer of the esophagus: a French multicentre case-control study*, *Int J Cancer*. 1998 Mar 30; 76(1): 7-12.
30. Liede K, et al., *Long-term supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene and prevalence of oral mucosal lesions in smokers*, *Oral Dis*. 1998 Jun; 4(2): 78-83.
31. Livrea e al.
32. London RS, et al., *Endocrine parameters and alpha-tocopherol therapy of patients with mammary dysplasia*, *Cancer Res*. 1981 Sep; 41(9 Pt 2): 3811-3813.
33. London RS, et al., *The effect of vitamin E on mammary dysplasia: a double-blind study*, *Obstet Gynecol*. 1985 Jan; 65(1): 104-106.
34. Lovas JG, et al., *Beta-carotene and lung cancer?*, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996 Sep; 82(3): 236-237.
35. Malone WF, *Studies evaluating antioxidants and beta-carotene as chemopreventives*, *Am J Clin Nutr*. 1991 Jan; 53(1 Suppl): 305S-313S. Review.
36. McCarty MF, *An antithrombotic role for nutritional antioxidants: implications for tumor metastasis and other pathologies*, *Med Hypotheses*. 1986 Apr; 19(4): 345-357. Review.
37. McKeown-Eyssen G, et al., *A randomised trial of vitamins C and E in the prevention of recurrence of colorectal polyps*, *Cancer Res*. 1988 Aug 15; 48(16): 4701-4705.
38. Mettlin C, *Chickens, chemoprevention and randomized trials*, *Nutrition*. 1993 Jul; 9(4): 382-383.
39. Meyer EC, et al., *Vitamin E and benign breast disease*, *Surgery*. 1990 May; 107(5): 549-551.
40. Miller HH, et al., *Psychosocial adjustment of familial polyposis patients and participation in a chemoprevention trial*, *Int J Psychiatry Med*. 1986; 16(3): 211-230.
41. Nierenberg DW, et al., *Effects of 4 y of oral supplementation with beta-carotene on serum concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids*, *Am J Clin Nutr*. 1997 Aug; 66(2): 315-319.
42. Patterson RE, et al., *Vitamin supplements and cancer risk: the epidemiologic evidence*, *Cancer Causes Control*. 1997 Sep; 8(5): 786-802. Review.
43. Pianezza, *Cancro, oltre la chemioterapia*, Ed. Raphael, 1998.
44. Pozzi V, et al., [*Clinical use of vitamin A and E in gynecology*], *Acta Vitaminol Enzymol*. 1985; 7 Suppl: 79-83. Italian.
45. Rapola JM, et al., *Effects of alpha tocopherol and beta carotene supplements on symptoms, progression, and prognosis of angina pectoris*, *Heart*. 1998 May; 79(5): 454-458.
46. Rapola JM, et al., *Randomized trial of alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infarction*, *Lancet*. 1997 Jun 14; 349(9067): 1715-1720.
47. Schorah CJ, *Micronutrients, antioxidants and risk of cancer*, *Bibl Nutr Dieta*. 1995; 52: 92-107. Review.
48. Scott RS, *Antioxidant vitamins: getting to the heart of the matter*, *N Z Med J*. 1996 Aug 23; 109(1028): 324.
49. Sigounas e al., "La vitamina E induce l'apoptosi nelle cellule cancerose....", *Nutr. Cancer*, 1997.
50. Taylor PR, et al., *Selenium, vitamin E, and prostate cancer--ready for prime time?*, *J Natl Cancer Inst*. 1998 Aug 19; 90(16): 1184-1185.
51. Teikari JM, et al., *Long-term supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene and age-related cataract*, *Acta Ophthalmol Scand*. 1997 Dec; 75(6): 634-640.
52. Teikari JM, et al., *Retinal vascular changes following supplementation with alpha-tocopherol or beta-carotene*, *Acta Ophthalmol Scand*. 1998 Feb; 76(1): 68-73.
53. Teikari JM, et al., *Six-year supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene and age-related maculopathy*, *Acta Ophthalmol Scand*. 1998 Apr; 76(2): 224-229.

54. Turley et al., Cancer Research, 1997

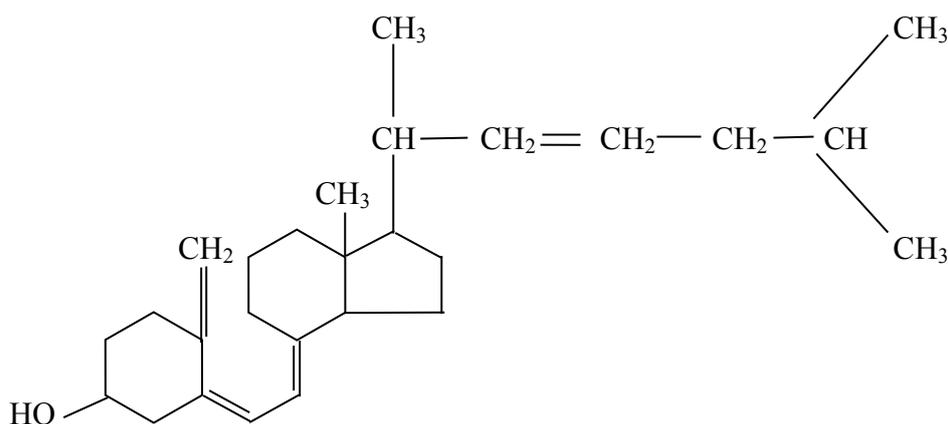
55. Wolf R, et al., *Vitamin E: the radical protector*, J Eur Acad Dermatol Venereol. 1998 Mar; 10(2): 103-117.

Vitamina D

Ergocalciferolo (D₂)



Colecalciferolo (D₃)



Il termine Vitamina D comprende sostanze ad attività antirachitica, che intervengono sulla calcemia, cioè sono attive sul tasso di calcio presente nel sangue e sul metabolismo del fosforo.

Il rachitismo si può evidenziare dall'età di 6-24 mesi, e una delle cause, oltre all'insufficiente apporto alimentare e alla scarsa esposizione ai raggi ultravioletti della luce solare, può essere l'insufficiente formazione di acidi biliari essenziali per l'assorbimento della vit. D, o una patologia intestinale da mal assorbimento. Nell'adulto l'assorbimento è compromesso da patologie epatiche come la cirrosi o affezioni renali (osteodistrofia renale). In questa, si verifica un difetto di assorbimento intestinale del calcio in forma ionica dovuto a insufficiente produzione da parte del parenchima renale di 1, 25(OH)₂ vit. D, indispensabile appunto per l'assimilazione intestinale del calcio. Questa situazione è frequente nei dializzati, e si accompagna a demineralizzazione scheletrica, osteite fibrosa, deformazioni e fratture patologiche.

Finora in natura sono state identificate sette vitamine D, le più attive delle quali, comunemente usate in terapia, sono la D2 o Ergocalciferolo, derivato da irradiazione con raggi ultravioletti dell'Ergosterolo, Sterolo vegetale, e la D3 o Colecalciferolo, composto naturale, presente in concentrazioni elevate soprattutto nel fegato di certi pesci e in altri animali. Si forma per irradiazione del 7-Deidrocolesterolo presente nella pelle, da parte dei raggi ultravioletti. La trasformazione da 7 Deidrocolesterolo in Colecalciferolo, o D3, avviene in tutta l'epidermide con una particolare intensità a livello degli strati cellulari spinoso e basale e una lunghezza d'onda della luce di 295 micron, con un massimo di trasformazione dal 65% al 71%. E' stata accertata una capacità di sintesi anche da parte di altre cellule, come fibroblasti e cheratinociti e un decadimento della capacità di sintesi nell'epidermide dell'anziano, più povera di 7- deidrocolesterolo. L'eccessiva irradiazione della pelle non ha mai provocato effetti tossici. La D3 così sintetizzata viene assorbita e passa in circolo veicolata dalla proteina (DBP). Alcuni farmaci interferiscono con la vit. D, infatti, i barbiturici ne accelerano l'inattivazione per ossidrilazione, mentre l'Isoniazide ha una chiara attività inibente. Esiste un meccanismo di equilibrio e compenso tra paratiroidi e vit. D, infatti, la calcemia stimola le paratiroidi a secernere il paratormone, che a sua volta, promuove la sintesi della vit. D, su cui incide anche la concentrazione di fosforo nel sangue.

In natura vi sono diverse sostanze dette provitamine D, per l'affinità chimica che le rende facilmente trasformabili in vit. D. Ad esse si aggiunge un notevole numero di composti simili, ottenuti per sintesi, che riproducono le proprietà della vitamina D, oggetto di studi sperimentali e clinici circa le indicazioni terapeutiche e un potenziamento della risposta clinica. Questi prodotti sintetici, simili alla vit. D, sono definiti "Deltanoidi".

Le otto provitamine D naturali sono: Ergosterolo, Epiergosterolo, 7-Deidrocolesterolo, 7-Deidroepicosterolo, 22-diidroergosterolo, 7Deidrositosterolo-Deidrostigmasterolo, 7 Deidrocampesterolo. La struttura chimica comune le colloca nel gruppo degli steroli, di cui posseggono le principali caratteristiche e proprietà. Sono solubili nei lipidi (grassi) e in molti solventi organici, non si sciolgono in acqua, si dicono pertanto liposolubili, si presentano come sostanze solide, cristalline. La reazione che trasforma le provitamine in vitamine è molto complessa, con diversi passaggi intermedi. Il processo fotochimico più conosciuto è quello che porta dall'Ergosterolo, attraverso passaggi intermedi, alla vit. D2 o Ergocalciferolo.

La massima parte delle trasformazioni subite dalla vit. D sono a carico della catena laterale e tutti i prodotti di degradazione hanno una rapida inattivazione ed eliminazione, come se avessero attività tossica. La trasformazione enzimatica si svolge prevalentemente a livello dell'intestino tenue.

La vit. D è il più importante fattore di regolazione del metabolismo del calcio e del fosforo, con il concorso del Paratormone e della Calcitonina, e senza di essa non sarebbe possibile l'assorbimento intestinale e l'incorporazione di questi minerali nelle ossa. Alterazioni scheletriche rapportabili al rachitismo sono state scoperte in scheletri di 50.000 anni fa. I primi dati sperimentali sull'attività terapeutica della vit. D si devono a Mellamby che nel 1919 riuscì a guarire distrofie ossee nei cani con diete adeguate, contenenti olio di fegato di merluzzo. La definizione di vit. D si deve a Mc Collum nel 1922. Risalgono al 1919 le prime ricerche sulla guarigione dal rachitismo dei bambini per mezzo dei raggi ultravioletti, e si deve a Windaus l'isolamento chimico della vitamina D. Essa è veicolata nel sangue da proteine e sono stati individuati recettori a livello delle cellule della mucosa intestinale su cui si può fissare, la cui struttura chimica risulta essere una proteina solforata con gruppi SH liberi su cui agiscono per competizione anche reagenti che avendo affinità per gli stessi gruppi ostacolano questo legame recettoriale della vit. D. Tra i tessuti in cui la vit. D si deposita con maggiore facilità vi è il tessuto adiposo, in cui si riscontrano le più alte concentrazioni per somministrazioni prolungate ed elevate di vit. D, concentrazioni decrescenti sono state individuate nel plasma, nel cuore e in organi in cui si possono verificare fenomeni di eccesso di deposito di calcio con calcificazioni patologiche, (calcinosi) come il rene, fegato, polmoni e aorta. La dose ottimale per bimbi e adolescenti oscilla, in base anche alla presenza di calcio e fosforo nella dieta, dai 10 ai 20 gamma (corrispondenti a 400-800 U.I.). Una notevole differenza di concentrazione nei vari distretti è relativa anche alla forma chimica libera o legata a proteine (DBP) in cui si presenta e si diffonde la vit. D. Nel plasma la massima concentrazione, con un incremento che può giungere al doppio dei valori abituali, si riscontra in gravidanza, in cui, per il rapporto di concentrazione di vit. D tra madre ed embrione si è dedotta una permeabilità placentare alla vitamina. L'attraversamento della membrana placentare avverrebbe solo per la vit. D allo stato libero non legata alla proteina che la veicola (DBP). Nel neonato sono state riscontrate concentrazioni sieriche di vit. D, che vanno dal 49% al 108% rispetto a quelle materne. Il fabbisogno medio di un neonato si aggira sulle 400 U.I. (unità internazionali) di vit. D. Sono state osservate notevoli escursioni stagionali, con un picco massimo nei mesi estivi, in rapporto all'esposizione e intensità della luce solare.

Rilevante, per le indicazioni terapeutiche tra i derivati della vitamina D, il Diidrotachisterolo, denominato anche A.T.10 o Preparato antitetano N° 10-, definendosi tetania uno stato di contrattura muscolare dovuta a carenza di calcio. Più conosciuto l'impiego del termine "Tetania" per definire la grave contrattura muscolare da infezione batterica per effetto della tossina tetanica. La struttura chimica di questo composto, diminuisce di circa 400 volte l'attività antirachitica rispetto alla D2, ma potenzia notevolmente l'incremento del tasso di calcio nel sangue e il metabolismo del calcio

nel tessuto osteocartilagineo. Svolge inoltre una spiccata e documentata azione sia preventiva sia curativa antitumorale insieme ai numerosi e similari derivati sintetici, appositamente studiati. La carenza di vit. D crea rachitismo, ancora diffuso, più nei primi anni di vita e, molto più raramente, negli adolescenti (rachitismo tardivo), oppure negli adulti (osteomalacia). Il danno interessa diffusamente il sistema scheletrico, che risente globalmente dell'alterato metabolismo del calcio, con manifestazioni a livello delle ossa lunghe, che portando il carico dell'organismo, risentono delle sollecitazioni meccaniche e, nel punto di giunzione tra epifisi e diafisi, presentano ispessimenti, che radiograficamente risultano scarsi di deposizione di calcio. Pertanto le ossa lunghe degli arti inferiori per minore rigidità e resistenza si deformano, incurvandosi di vario grado. Le ossa craniche presentano carenze di calcificazione a livello della fontanella che rimane aperta oltre i tempi fisiologici. Sono stati osservati alcuni casi in cui in presenza di concentrazioni insufficienti di vit. D non si sono manifestati sintomi rachitici, mentre in altri, questi sintomi sono comparsi con concentrazioni nettamente più elevate della vitamina, perciò concorrono nel determinare il rachitismo altri fattori come la quantità di calcio e fosforo nella dieta e caratteristiche genetiche.

Tra i sintomi caratteristici il rilievo e l'evidenza delle costole dovute a ispessimenti tra coste toraciche e cartilagini, definito "Rosario rachitico". Si manifesta anche un certo rallentamento nella dentizione, con fragilità dei denti per scarsa deposizione di calcio e lesioni dello smalto. Questo quadro nei bimbi rachitici, nelle forme più evidenti, è accompagnato da astenia, fragilità degli epiteli aerodigestivi superiori e facilità a contrarre flogosi catarrali recidivanti o malattie infettive. Pertanto la vit. D trova indicazioni sinergiche ai retinoidi, alla vit. C, e alla vit. E nel potenziamento dell'immunità naturale sia tissutale che umorale, nell'integrità degli epiteli e dei tessuti di sostegno, nel concorrere a regolare la crasi ematica. Le lesioni tipiche da carenza di vit. D sono dovute a livello biochimico, a un sovvertimento del metabolismo minerale per carente assimilazione e utilizzazione del calcio e del fosforo da parte dei tessuti scheletrici. Nel sangue viene alterato il rapporto fisiologico tra calcio e fosforo, che normalmente è 2-. Il Metabolismo del Fosforo è profondamente alterato per caduta dai 4-6 mg % fisiologici a 1-2 mg % ed eliminazione eccessiva e patologica attraverso l'emuntorio renale. Questi studi sono stati condotti anche con radioisotopi che hanno consentito un completamento anche topografico del rapporto calcio\fosforo e della loro deposizione e distribuzione nel tessuto osteocartilagineo. L'assorbimento della D è intestinale, insieme ai lipidi. Dagli organi di deposito viene mobilizzata e utilizzata soprattutto nelle fasi prolungate di mancata esposizione alla luce solare, del cui spettro la frazione ultravioletta è responsabile della sintesi della D a livello cutaneo. E' scarsamente contenuta negli ortaggi e nei vegetali verdi in genere. Si trova, soprattutto a livello del fegato dei pesci, nei grassi, nelle uova, nel latte, burro e derivati.

I recettori per la vit. D sono ampiamente diffusi e sono stati individuati in oltre il 60% di tessuti biologici sani e tumorali, con netta prevalenza di localizzazioni nucleari. Per la sua struttura chimica e la liposolubilità, la vit. D attraversa facilmente sia la membrana cellulare sia nucleare, dove in alta percentuale sono concentrati i recettori definiti convenzionalmente VDR, alcuni dei quali in comune ad ormoni steroidei, tiroidei e a retinoidi. Una vasta letteratura scientifica ha accertato, valorizzato e confermato la spiccata attività sia preventiva sia terapeutica della vit. D nelle patologie neoplastiche. Diversi derivati sintetici della vit. D, definiti Deltanoidi, sono stati appositamente studiati per potenziare quest'attività antiblastica, riducendo contemporaneamente alcuni effetti collaterali, quali l'incremento eccessivo della calcemia che, a certi livelli, rappresenterebbe un limite all'uso terapeutico. I recettori VDR intervengono sulla trascrizione e sull'attività dei geni c-myc e c fos, e interagiscono formando eterodimeri per il recettore X dei retinoidi (RXR). Numerosi studi clinici sperimentali e in vitro sulla vit. D3 e sui deltanoidi hanno evidenziato e confermato le modalità con cui si realizza l'effetto antiblastico: attivazione della differenziazione cellulare, induzione all'apoptosi, effetto antiproliferativo bloccando la mitosi cellulare in G1, azione sinergica ai retinoidi, vit. C, vit. E e MLT, nel potenziamento dell'immunità naturale e nel blocco dell'angiogenesi tumorale. Gli studi hanno interessato linee cellulari neoplastiche prevalentemente della mammella, ovaio, prostata, tessuto nervoso cerebrale, colon, cellule del midollo osseo con funzione ematopoietica e metastasi polmonari di melanoma e di osteosarcoma. L'effetto preventivo della D3 è stato evidenziato da Launoy e AA in uno studio epidemiologico sui fattori di rischio e di protezione dall'insorgenza del carcinoma esofageo nella popolazione francese. E' stato accertato un potenziamento della prevenzione per l'uso sinergico della vit. E. Barroga e AA (2, 3) hanno pubblicato nel 1999 su *Zentralblatt Fuer Veterinar-Reihe*, uno studio dal titolo "Induzione di differenziazione funzionale e inibizione della crescita in vitro di osteosarcoma canino, mediante 22-oxacalcitrol, calcitrolo e acido trans retinoico". Hanno accertato che il deltanoide sintetico 22-oxacalcitrol (OTC) e l'ac. trans retinoico (ATRA) inducono una maturazione fenotipica delle cellule dell'osteosarcoma canino (POS) in cellule funzionalmente mature, differenziate, fisiologicamente normali, attivando parallelamente un'inibizione della proliferazione cellulare neoplastica. Gli stessi autori nel 2000, nella stessa rivista, hanno pubblicato uno studio sulle metastasi polmonari da cellule di osteosarcoma, che rappresentano la prima causa di mortalità di questa varietà tumorale. Fu studiata una linea cellulare con spiccata tendenza alle metastasi polmonari, definita POS(HMPOS), notando un'evidente e significativa soppressione della proliferazione cellulare neoplastica, la riduzione a 1/3 di micronoduli polmonari metastatici nei ratti da esperimento trattati con ac. retinoico da solo e assenza di metastasi polmonari nei ratti trattati con vit. D più ac. retinoico. Gli autori concludono che questo studio ha dimostrato un'attività della

vit. D insieme all'ac. retinoico, di differenziazione cellulare, antiproliferativa, proapoptotica, antimetastatica. Il dato è confermato dallo studio di Yudoh, Matsuno e AA (34), pubblicato nel 1999 sul *Journal of Laboratory & Clinical Medicine* dal titolo "La 1-alfa,25-diidrossivitamina D3, inibisce in vitro l'invasività nella matrice extracellulare e in vivo, le metastasi polmonari nel melanoma B16 nei topi". Lo studio è di notevole interesse perché non solo accerta l'effetto antimetastatico della vit. D, ma ne chiarisce modalità e meccanismo d'azione attraverso l'inibizione della degradazione delle barriere della matrice cellulare (ECM) da parte delle cellule tumorali mediante la collagenolisi. Pertanto la vit. D impedisce sia l'adesività delle cellule neoplastiche alla (ECM) che il suo superamento attraverso la degradazione per collagenolisi. Nei modelli di metastasi polmonari spontanee e sperimentali dei topi, il trattamento con D3 ha impedito la diffusione metastatica.

Significativo è il titolo della pubblicazione di Hisatake Kubota e AA (14), "5,6-trans-16-ene-vit. D3: Una nuova classe di potenti inibitori delle cellule leucemiche, mielosi, prostata, seno", *Cancer Research*, 1999. E' stato evidenziato un potente effetto antiproliferativo del nuovo deltanoide (1,25-OH-2-16-ene-5,6-trans-D3) sulle linee di cellule (MCF-7) di cancro al seno, di quelle (LNCaP) di cancro alla prostata e delle linee di cellule (HL-60) della leucemia mieloide. L'inibizione alla crescita era in gran parte irreversibile ed era dovuta ad un blocco in G0-G1 della mitosi cellulare con forte inibizione della clono -proliferazione e invasività.

Majewski (21) nel maggio 2000 ha pubblicato un articolo su *Current Pharmaceutical Design* evidenziando l'effetto della D3 e dei Deltanoidi nelle lesioni precancerose cutanee e nei tumori della pelle e discutendo i meccanismi cellulari e molecolari della loro attività antineoplastica, confermando gli effetti antiproliferativi, prodifferenzianti, induttori all'apoptosi e d'inibizione dell'angiogenesi tumorale. Si va ulteriormente confermando il dato del sinergismo con i retinoidi. Gli autori sottolineano l'importanza dell'uso combinato retinoidi - vit. D nella prevenzione delle lesioni cutanee ad alto rischio per impedirne l'involutione neoplastica o nelle lesioni tumorali iniziali della pelle, in cui il trattamento può essere risolutivo. Una conferma deriva dagli studi di Nakayama e AA (27), *European Journal of Dermatology*, 1999, in cui l'uso della vit. D3 migliora la pigmentazione delle macchie cutanee e inibisce lo sviluppo dei neurofibromi nel morbo di Recklinghausen.

Verlinden e AA (31), *Cancer Research*, 2000, confermando il dato dell'effetto antiblastico della D3 ne hanno studiato e approfondito il meccanismo d'azione sia in vitro che in animali da esperimento trapiantati con cellule MCF-7 del tumore della mammella concludendo che la D3 e suoi analoghi di sintesi bloccano in fase G1 il ciclo cellulare impedendo la proliferazione cellulare e abbattendo le concentrazioni di cyclin C e D1, noti attivatori della riproduzione cellulare.

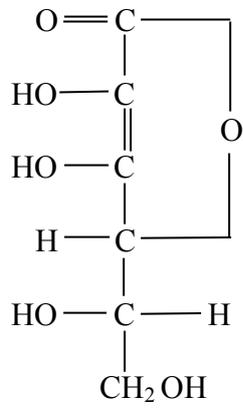
Gli autori e i lavori citati rappresentano un piccolo campione del riscontro e della conferma dell'attività sia preventiva che curativa antitumorale della vit. D3, anch'essa elemento componente del Metodo Di Bella.

Bibliografia

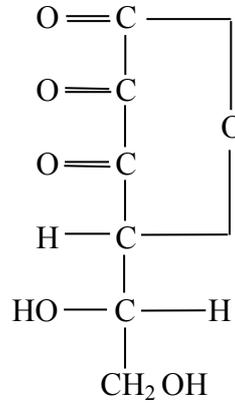
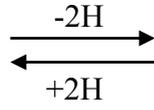
1. Allman R, Cowburn P, Mason M, *In vitro and in vivo effects of a cyclic peptide with affinity for the alpha(nu)beta3 integrin in human melanoma cells*, European Journal of Cancer. 2000 Feb; 36(3): 410-422.
2. Barroga EF, Kadosawa T, Okumura M, Fujinaga T, *Induction of functional differentiation and growth inhibition in vitro of canine osteosarcoma by 22-oxa-calcitriol, calcitriol and all-trans retinoic acid*, Zentralblatt Fuer Veterinarmedizin – Reihe A. 46(9): 573-9, 1999 Nov.
3. Barroga EF, Kadosawa T, Okumura M, Fujinaga T, *Inhibitory effects of 22-oxa-calcitriol and all-trans retinoic acid on the growth of canine osteosarcoma derived cell-line in vivo and its pulmonary metastasis in vivo*, Research Veterinary Science. 2000 Feb; 68(1): 79-87.
4. Beer TM, Munar M, Henner WD, *A Phase I trial of pulse calcitriol in patients with refractory malignancies: pulse dosing permits substantial dose escalation*, Cancer 2001 Jun 15;91(12):2431-9.
5. Blazsek I, et al., *Combined differentiation therapy in myelodysplastic syndrome with retinoid acid, 1 alpha, 25 dihydroxyvitamin D3, and prednisone*, Cancer Detect Prev. 199; 16(4): 259-264.
6. Blutt SE, Polek TC, Stewart LV, Kattan MW, Weigel NL, *A calcitriol analogue, EB1089, inhibits the growth of LNCaP tumors in nude mice*, Cancer Research. 2000 Feb 15; 60(4): 779-782
7. Campbell MJ, Koeffler HP, *Toward therapeutic intervention of cancer by vitamin D compounds*, Journal of National Cancer Institute, Vol. 89, N. 3, Feb 5, 1997.
8. Feldman D, Zaho ZY, Krishnan AV, *Vitamin D and prostate cancer [editorial; comment]*, Endocrinology. 2000 Jan; 141(1): 5-9.
9. Grant WB, *Calcium, lycopene, vitamin D and prostate cancer [letter; comment]*, Prostate. 2000 Feb 15; 42(3): 243.
10. Hansen CM, et al., EB 1089, *A novel vitamin D analog with strong antiproliferative and differentiation-inducing effects on target cells*, Biochem Pharmacol. 1997 Dec 1; 54(11): 1173-1179. Review.
11. Harverstick DM, Heady TN, MacDonald TL, Gray LS, *Inhibition of human prostate cancer proliferation in vitro and in a mouse model by a compound synthesized to block Ca²⁺ entry*, Cancer Research. 2000 Feb 15; 60(4): 1002-1008.
12. Hayashi YM, Honma Y, Hiitsu N, Taki T, Bessho F, Saki M, Mori T, Yanagisawa M, Tsuji K, Nakahata T, *SN-1, a novel leukemic cell line with t(11;16) (q23;p13): myeloid characteristics and resistance to retinoids and vitamin D3*, Cancer Research. 2000 Feb 15; 60(4): 1139-1145.
13. Heisler T, Towfigh S, Simon N, Liu C, McFadden DW, *Peptide YY augments gross inhibition by vitamin E succinate of human pancreatic cancer cell growth*, Journal of Surgical Research. 2000 Jan; 88(1): 23-25.
14. Hisatake J, Kubota T, Hisatake Y, Uskokovic M, Tomoyasu S, Koeffler HP, *5, 6-trans-16-ene-vitamin D3: a new class of potent inhibitors of proliferation of prostate, breast, and myeloid leukemic cells*, Cancer Research. 9(16):4023-9, 1999 15 Aug.
15. Hu OY, et al., *Determination of anticancer drug vitamin D3 in plasma by high-performance liquid chromatography*, J Chromatogr B Biomed Appl. 1995 Apr 21; 666(2): 299-305.
16. Hunt NC, Fujikawa Y, Sabokbar A, Itonaga I, Harris A, Athanasou NA, *Cellular mechanisms of bone resorption in breast carcinoma*, Br J Cancer 2001 Jul 6;85(1):78-84
17. Kelloff GJ, et al., *Clinical development plan: vitamin D3 and analogs*, J Cell Biochem Suppl. 1994; 20: 268-281.

18. Koike M, et al., *19-nor-hexafluoride analogue of vitamin D3: a novel class of potent inhibitors of proliferation of human breast cell lines*, *Cancer Res.* 1997 Oct 15; 57(20): 4545-4550.
19. Kyle Ra, et al., *Effect of sodium fluoride, calcium carbonate, and vitamin D on the skeleton in multiple myeloma*, *Cancer Research*, 1982 May; 42(5): 2087-2091.
20. Lee E, Jeon SH, Yi JY, Jin YJ, Son YS, *Calcipotriol inhibits autocrine phosphorylation of EGF receptor in a calcium-dependent manner, a possible mechanism for its inhibition of cell proliferation and stimulation of cell differentiation*, *Biochem Biophys Res Commun* 2001 Jun 8;284(2):419-25
21. Majewski S, Kutner A, Jablonska S., *Vitamin D analogs in cutaneous malignancies*, *Current Pharmaceutical Design*, 6(7):829-38, 2000 May.
22. Major PP, Lipton A, Berenson J, Hortobagyi G, *Oral bisphosphonates: A review of clinical use in patients with bone metastases*, *Cancer*. 2000 Jan 1; 88(1): 6-14.
23. Makishima M, Okabe-Kado, Honma Y, *Growth inhibition and differentiation induction in human monoblastic leukaemia cells by 1 α -hydroxyvitamin D derivatives and their enhancement by combination with hydroxyurea*, *British Journal of Cancer* (1998), 77(1):33-39.
24. Mehta RR, Bretescu L, Graves JM, Green A, Mehta RG, *Differentiation of human breast carcinoma cells by a novel vitamin D analog: 1 α -hydroxyvitamin D5*, *International Journal of Oncology*. 2000 Jan; 16(1): 65-73.
25. Mikami K, Ohba S, Ohmura H, Kubodera N, Nakagawa K, Okano T, *Asymmetric catalytic en-cyclization approach to 2-fluoro-19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D(3) A-ring analog with significant transactivation activity*. *Chirality* 2001 Jul;13(7):366-71.
26. Momparler RL, et al., *Interaction of 5-aza-2'-deoxycytidine with amsacrine of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on HL-60 cells and inhibitors of citadine deaminase*, *Leukemia*. 1993 May; Suppl 1: 17-20.
27. Nakayama J, Kiryu H, Urabe K, Matsuo S, Koga T, Furue M, *Vitamin D3 analogues improve café au lait spots in patients with von Recklinghusen's disease*, *European Journal of Dermatology*. 9(3): 202-6, 1999 Apr.-May.
28. Sasaki T, [*Combination of levofolinate calcium and 5-fluorouracil*], *Gan to Kagaku Ryoho* [Japanese Journal of Cancer & Chemotherapy]. 2000 Feb; 27(2): 315-322.
29. Taniyama T, Wanibuchi H, Salim Ei, Yano Y, Otani S, Nishizawa Y, Morii H, Fukushima S, *Chemopreventive effects of 24R, 25-dihydroxyvitamin D(3) in N, N'-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis*, *Carcinogenesis*. 2000 Feb; 21(2): 173-178.
30. Van Weelden K, Flanagan L, Binderup I, Tenniswood M, Welsh JE, *Apoptotic regression of MCF-7 xenografts in nude mice treated with the vitamin D3 analog, EB1089*, *Endocrinology*, Vol. 139, N. 4, pp. 2102-10.
31. Verlinden L, Verstyf A, Van Camp M, Marcelis S, Sabbe K, Zhao XY, De Clercq P, Vandewalle M, Bouillon R, *Two novel 14-Epi-analogues of 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibit the growth of human breast cancer cells in vitro and in vivo*, *Cancer Research*. 60(10): 2673-9, 2000 May 15.
32. Wali RK, et al., *1 alpha, 25-Dihydroxy-16-ene-23-yne-26, 27-hexafluorocholecalciferol, a noncalcemic analogue of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3, inhibits azoxymethane-induced colonic tumorigenesis*, *Cancer Res.* 1995 Jul 15; 55(14): 3050-3054.
33. White E, et al., *Relationship between vitamin and calcium supplement use and colon cancer*, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997 Oct; 6(10): 769-774.
34. Yudoh K, Matsuno H, Rimura T, *1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits in vitro invasiveness through the extracellular matrix and in vivo pulmonary metastasis of B16 mouse melanoma*, *Journal of Laboratory & Clinical Medicine*. 133(2):120-8, 1999 Feb.
35. Zhuang S-H, Burnstein KL, *Antiproliferative effect of 1 α , 25 dihydroxyvitamin D3 in human prostate cancer cell line LNCaP involves reduction of cyclin-dependent kinase 2 activity and persistent G1 accumulation*, *Endocrinology*, vol. 139, N. 3, pp. 1197-1207, 1998.

Vitamina C



Ac. L-ascorbico



Ac. L-deidroascorbico

Chimicamente la vit. C è definita Acido L Ascorbico e presenta strette analogie con gli esosi, cioè i glucidi (zuccheri) con sei atomi di carbonio. Si presenta in forma di polvere bianca, cristallina, di sapore tendenzialmente e lievemente acidulo; è facilmente solubile in acqua (bastano 3 ml d'acqua per sciogliere 1g di vit. C), è fortemente sensibile agli ossidanti, che la trasformano in Ac. Deidroascorbico, con processo reversibile. E' dotata di una notevole attività riducente, è un acido forte, e la sua attività biologica fondamentale è quella di trasportare idrogeno in varie fasi del metabolismo intermedio. Non si scioglie nei grassi e solventi organici e mentre la forma solida, cristallina, è più stabile, è invece labile in soluzione, specie se in ambiente neutro o alcalino.

Storicamente le prime descrizioni dei sintomi da carenza di vit. C risalgono ai medici al seguito dei crociati, che individuarono in frutta e ortaggi freschi i mezzi per prevenire e curare queste manifestazioni carenziali. Nel 1593 Sir Richard Hawkins, nelle "Observations on his voyage to the South sea", individuò nel succo di limone il mezzo più efficace per prevenire la malattia. Si dovette però attendere il 1913 per potere scientificamente, attraverso dati sperimentali, stabilire il rapporto causale in animali da esperimento tra dieta carente e manifestazioni patologiche correlate. Il termine vit. C si deve a Drummond nel 1920 che così definì il fattore vitaminico la cui carenza determina lo scorbuto e la cui somministrazione lo risolve rapidamente. Dal 1918 al 1933 vari scienziati tra cui Zilva, Szent-Gyorgy e AA, hanno approfondito gli studi sulla vit. C, mentre nel 1933 veniva in forma definitiva identificata la struttura chimica e successivamente la sua sintesi da parte di Reichstein e Haworth.

La sintomatologia da grave e prolungata carenza di vit. C è prevalentemente rappresentata da manifestazioni emorragiche, infatti la vit. C è definita anche "Vitamina antiemorragica". Quando l'avitaminosi C si presenta nei bimbi, prende il nome di morbo di Barlow. Queste lesioni emorragiche si manifestano soprattutto in quelle zone dell'organismo maggiormente esposte a traumatismi anche minimi o leggeri, come le gengive, le labbra, e secondariamente a livello della pelle, muscoli, sclere, articolazioni e visceri. Lesioni evidenti interessano anche i tessuti osteocartilaginei di sostegno per l'azione determinante della vit. C a livello delle strutture mesenchimali, non solo per l'azione a livello delle cellule osteogenetiche ma del reticolo e dello stroma proteico della sostanza ossea. La fragilità capillare negli stati carenziali di vit. C è determinata dalla mancata formazione di quella sostanza che collega l'una all'altra le cellule endoteliali costituenti il rivestimento intimo, interno, dei capillari e dei vasi sanguigni. La fragilità vasale e relative emorragie sono pertanto secondarie a deficit della sostanza cementante l'endotelio. Per queste proprietà ed azioni e per la conosciuta e forte attivazione dell'immunità naturale, dei meccanismi di difesa, la vit. C trova molteplici indicazioni. Essa non è tossica e non sono registrati casi di ipervitaminosi. Il fabbisogno giornaliero di un adulto si può aggirare in media dai 100 ai

200-300 milligrammi. In corso di febbri, malattie, convalescenze, si possono somministrare anche più grammi al giorno senza inconvenienti e con riscontri positivi. Altri danni concomitanti da carenza o avitaminosi C, sono le manifestazioni atrofiche di ghiandole a secrezione interna, e del tessuto linfatico, responsabili di tanti fattori immunitari come citochine, interleuchine interferoni gamma globuline. Possono registrarsi danni a livello della crasi ematica e dinamica midollare con anemia primaria e secondaria. Alcuni sintomi possono simulare un'avitaminosi A per il difficile adattamento alla luce crepuscolare (emeralopia). Tipica anche negli stati carenziali modesti, nelle ipovitaminosi di grado medio-lieve, di vit. C (oggi è rara in forma conclamata, almeno nei paesi occidentali, una vera e propria avitaminosi) una spiccata sensibilità alle malattie infettive, specie nei bimbi, con fragilità degli epiteli aerodigestivi superiori e flogosi catarrali recidivanti o tendenti a cronicizzare.

L'intimo meccanismo d'azione della vit. C, malgrado la mole impressionante di studi sull'argomento, non è del tutto chiarito. L'elemento chiave resta comunque la reazione reversibile da Ac Ascorbico in Ac deidroascorbico, che ne fa un sistema ossido-riduttivo ubiquitario e primario per la vita, gli equilibri e i rapporti tra energia chimica e terreno biologico. In pratica la vit. C è, per gli equilibri biologici, un fondamentale veicolo di Idrogeno ed elettroni negli organuli del citosol per i processi di respirazione cellulare. Per citare alcuni dei passaggi metabolici vitali su cui agisce la vit. C: Ossidazione della Tirosina, e tutta la biosintesi degli ormoni cortico surrenalici e l'ossidrilazione di una quantità di principi vitali a struttura aromatica. L'assorbimento della vit. C è intestinale e il picco massimo di concentrazione nel sangue si registra dopo circa 50 - 60 minuti dall'ingestione. Sono soprattutto i tessuti a più alta dignità funzionale e più intensa attività metabolica i maggiori organi di deposito e utilizzatori di vit. C, tra questi le capsule surrenali, l'ipofisi, il corpo luteo. In condizioni normali circa il 30% di vit. C alimentare è utilizzata e distrutta dall'organismo, il rimanente è eliminato attraverso l'emuntorio renale con meccanismo di filtrazione glomerulare e di riassorbimento tubulare regolato dalla concentrazione ematica. Un'eliminazione urinaria giornaliera di 40 mg, indica un'assunzione adeguata di vit. C. La dispersione attraverso le urine di Vit. C aumenta contestualmente all'uso di alcuni alimenti come cavolo, avena e di farmaci come salicilici, antipiretici, barbiturici, estrogeni, sulfamidici. La Vit. C è contenuta in tutti i vegetali ricchi di clorofilla e carotenoidi, in tante varietà di frutta, (in cui con la maturazione decresce il quantitativo di vit. C), nei pomodori, negli agrumi.

Per il suo ruolo chiave nella respirazione cellulare, nell'integrità e nel trofismo di strutture vitali come l'endotelio vasale, cioè quel tessuto che riveste internamente l'intero sistema circolatorio - vascolare del nostro organismo e ne regola permeabilità e pertanto tutti gli scambi emotissutali, il Prof. Di Bella ha inserito la vit. C tra i componenti del suo Metodo antitumorale.

Altri motivi sono stati il suo ruolo determinante come antiossidante e come attivatore dell'immunità naturale sia tissutale che umorale, oltre che un'attività globale e spiccata sul trofismo cellulare e delle strutture di sostegno, reticolari e membrane basali su cui poggiano e sono sottese le componenti cellulari.

Essendo tutta la cessione di principi essenziali tra sangue e tessuti, determinata dall'integrità e fisiologica permeabilità dell'endotelio, è intuibile come la vit. C, insieme alla Melatonina, concorra a regolare modalità quantità qualità, tempi di questi scambi, inducendo un'ottimale funzionalità dell'endotelio e rendendolo molto più resistente e meno permeabile al transito di cellule tumorali e pertanto di metastasi. Il primo a intuire il concorso che poteva dare la vit. C nella terapia del cancro è stato Pauling, premio Nobel per la chimica, il quale per lunghi periodi della sua vita ha assunto fino a 20 grammi di vit. C al di senza inconvenienti. Probabilmente Pauling ha sopravvalutato gli effetti della vit. C nei tumori, non potendo un unico elemento terapeutico venire a capo di una patologia così complessa, multiforme, dalle catene eziopatogenetiche molteplici, varie e mutevoli come il cancro, affrontabile solo con un trattamento multifattoriale. E' comunque innegabile, che nel contesto di una multiterapia antitumorale razionale, non si possa prescindere dalla vit. C, né a livello preventivo che terapeutico, come confermano numerosi studi clinici e pubblicazioni di cui riportiamo una rassegna sintetica.

Nel 1980 è stato pubblicato da Kanclerz e AA (11) su *Pol. Tyg. Lek Rewiew Polish*, uno studio "Ascorbic Acid in Oncology" relativo alle indicazioni della vit. C nei tumori, le cui conclusioni furono confermate da Cameron e AA (5) nella pubblicazione "Vit. C and cancer: an overview" nel 1982 su *Int. J. Vitam. Nutr. Respl. Suppl.* Nello stesso anno Murata (14) pubblicava sulla stessa rivista, uno studio clinico condotto su ammalati terminali di cancro, in cui alte dosi di vit. C avevano aumentato i tempi di sopravvivenza. Altro studio interessante "Vit. C and cancer" fu pubblicato da Gallmeier (9) nel 1982 su *MMW Munch Med. Wochenschr*, confermando l'utilità dell'apporto di vit. C nelle patologie neoplastiche. Effetti positivi sono stati anche riscontrati da Bussey (4) nelle forme pretumorali come le poliposi diffuse del colon, che hanno favorevolmente risposto alla vit. C, *Cancer* 1982. Risale al 1985 uno studio clinico controllato di Moertel e AA (13), pubblicato su *N. Engl. J. Med*, sull'effetto di alte dosi di vit. C in ammalati di tumore in stato critico avanzato. Nel 1989 De Cosse e AA (7) confermavano gli effetti positivi della vit. C nelle poliposi colon-rettali, *J. Natl. Cancer Inst.* Park (15) nel 1991 ha pubblicato su *Am. J. Cli. Nutr.* l'effetto della vit. C su cellule preleucemiche, leucemiche e del Mieloma. Significativa anche la pubblicazione di Ziegler (18) nel 1994 su *J. Natl. Cancer Institute*, circa l'impiego della vit. C nei tumori. Anthony e AA. (1) hanno pubblicato su *Br. J. Cancer* 1982, gli effetti positivi della vit. C nel cancro in uno studio ampio e documentato. Ferdessen (8) in uno studio pubblicato nel 1996 su

Ugesc Laeger Danish, “Vit. C and cancer” ha evidenziato l’apporto positivo della vit. C nella prevenzione e terapia del cancro. Il concetto è stato confermato da altri autori tra cui Barth (2) che ne ha riscontrato e descritto gli effetti chiaramente terapeutici in forme pretumorali o iniziali, insieme ad altre vitamine antiossidanti, *Int. J. Vitam Nutr. Ser* 1997. Nello stesso anno Schorha (16) pubblicava su *Acta Gastroenterol Belg*. l’utilità d’impiego della vit. C nel cancro dello stomaco.

Questo per dare solo un sintetico riscontro della rassegna della letteratura medico scientifica mondiale circa l’effetto preventivo e curativo della vit. C, usata con altri principi attivi, nei tumori.

Bibliografia

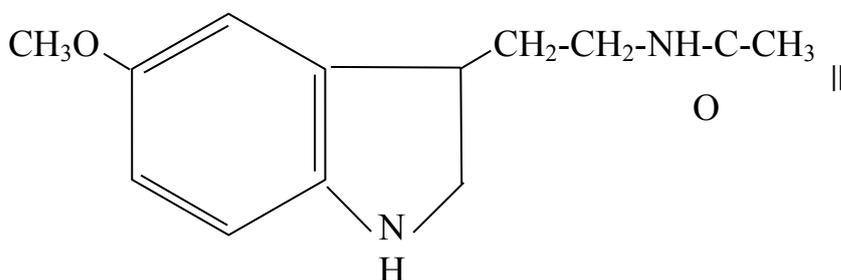
1. Anthony e AA, Br. J. Cancer, 1982
2. Barth TJ, et al., *Redifferentiation of oral dysplastic mucosa by the application of the antioxidants beta-carotene, alpha-tocopherol and vitamin C*, *Int J Vitam Nutr Res.* 1997; 67(5): 368-376.
3. Bendich A, et al., *The health effect of vitamin C supplementation: a review*, *J Am Coll Nutr.* 1995 Apr; 14(2): 124-136. Review.
4. Bussey HJ, et al., *A randomized trial of ascorbic acid in polyposis coli*, *Cancer.* 1982 Oct 1; 50(7): 1434-1439.
5. Cameron E, *Vitamin C and cancer: an overview*, *Int J Vitam Nutr Res Suppl.* 1982; 23: 115-127. Review.
6. Creagan ET, et al., *Failure of high-dose vitamin C (ascorbic acid) therapy to benefit patients with advanced cancer. A controlled trial*, *N Engl J Med.* 1979 Sep 27; 301(13): 687-690.
7. DeCosse JJ, et al., *Effect of wheat fiber and vitamins C and E on rectal polyps in patients with familial adenomatous polyposis*, *J Natl Cancer Inst.* 1989 Sep 6; 81(17): 1290-1297.
8. Ferdessen S, [*Vitamin C and cancer*], *Ugeskr Laeger.* 1996 Jul 1; 158(27): 3953-3954. Danish.
9. Gallmeier WM, [*Vitamin C and cancer*], *MMW Munch Med Wochenschr.* 1982 Jan; 8(1): 49-84.
10. Jaffey M, *Vitamin C and cancer: examination of the Vale of Leven trial results using broad inductive reasoning*, *Med Hypotheses.* 1982 Jan; 8(1): 49-84.
11. Kanclerz A, et al., [*Ascorbic acid in oncology*], *Pol Tyg Lek.* 1980 Oct 20; 35(40): 1543-1545. Review. Polish.
12. McKeown-Eyssen G, et al., *A randomized trial of vitamins C and E in the prevention of recurrence of colorectal polyps*, *Cancer Res.* 1988 Aug 15; 48(16): 4701-4705.
13. Moertel CG, et al., *High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy. A randomized double-blind comparison*, *N Engl J Med.* 1985 Jan; 312(3): 137-141-219.
14. Murata A, et al., *Prolongation of survival time of terminal cancer patients by administration of large doses of ascorbate*, *Int J Vitam Nutr Res Suppl.* 1982 Jul; 23: 103-113
15. Park CH, et al., *Growth modulation of human leukemic, preleukemic and myeloma progenitor cells by L-ascorbic acid*, *Am J Clin Nutr,* 1991 Dec; 54(6 Suppl): 1241S-1246S.
16. Schorha CJ, *Ascorbic acid metabolism and cancer in the human stomach*, *Acta Gastroenterol Belg.* 1997 Jul; 60(3): 217-219. Review.
17. Yamanaka WK, *Vitamin C and cancer. How convincing a connection?*, *Postgrad Med.* 1985 Nov 15; 78(7): 47-49.

18. Ziegler RG, *Re: Health claims about vitamin C and cancer*, J Natl Cancer Institute. 1994 Jun 1; 86(11): 871-872.

Melatonina

N-[2-(5-Metossi-1H-indol-3-il)etil]acetamide.

$C_{13}H_{16}N_2O_2$



Sinonimi: N-acetil-5-metossitriptamina

La Melatonina nella prevenzione e terapia delle patologie tumorali e degenerative

Per qualche tempo si è ritenuto che la MLT fosse esclusivamente prodotta dall'Epifisi, scientificamente studiata tra la fine dell'ottocento e l'inizio del novecento. In quel periodo si incominciò a riconoscere all'Epifisi dignità funzionale endocrina, mentre in precedenza veniva considerata un organo rudimentale dalle funzioni insignificanti e indefinite, anche se fino dall'antichità medici e filosofi si erano interessati ad essa, formulando ipotesi fantasiose, ma a volte suggestive e non prive di qualche intuizione geniale. Erofilo di Alessandria (325-280° a.C) attribuì all'Epifisi una funzione sfinterica della corrente del pensiero dal terzo al quarto ventricolo, mentre Erasistrato (310-250°a.C.) la considerò un tramite obbligato e via del "Pneuma Zotikon", (letteralmente gli spiriti animali, cioè la vita vegetativa), dal sangue ai ventricoli laterali, in cui avveniva la trasformazione in "Pneuma Psykikon", (vita spirituale, razionalità, pensiero, ideazione). La filosofia aristotelica localizzava anteriormente ai ventricoli cerebrali l'immaginazione e la fantasia, le sensazioni e i sentimenti, mentre posteriormente ipotizzava la sede della memoria, Galeno di Pergamo (132-200 d.C.) considerava i nervi come "tubuli" attraverso cui lo Pneuma Zotikon passava dai ventricoli cerebrali ad organi sensitivi, che ricevendo le afferenze di tutti gli

organi di senso e psichiche, darebbero le sensazioni. Il Pneuma Psikikon, gli spiriti vitali, cioè l'attività razionale, cosciente, volontaria, passando attraverso il quarto ventricolo, il midollo spinale e i nervi, consentirebbero l'attività motoria. Per la sua forma l'Epifisi ricordò a Galeno una pigna (Konarion in greco, Pinea in latino, da cui la definizione dell'Epifisi di ghiandola pineale).

La filosofia cartesiana nel 1600, fece in gran parte proprie le teorie aristoteliche e di Erasistrato sull'Epifisi, che separerebbe i corpuscoli di dimensioni microscopiche del Pneuma Zotikon, inviandoli ai ventricoli e agli organi di senso. Da qui gli Pneuma Zotikon affluirebbero, attraverso minuscoli pori delle pareti dei ventricoli ai nervi (ritenuti tubuli cavi) al sistema muscolare e sensitivo. Cartesio aveva intuito anche un sistema di vie nervose afferenti, che conducono gli stimoli nervosi dalla periferia al sistema nervoso centrale. Infatti ipotizzò un'afferenza delle sensazioni raccolte dalla periferia sui ventricoli e sull'Epifisi con relativa apertura o chiusura dei loro pori. Considerando che i "tubuli" non sono altro che le fibre nervose, ricoperte da guaina mielinica, che gli "spiriti vitali" sono neurotrasmettitori e mediatori chimici, risulta evidente la genialità di queste intuizioni. Anche Vesalio dopo molti studi autoptici, nel suo trattato *De umani corporis fabrica* descrisse anatomicamente l'Epifisi e le sue connessioni.

Morgagni in numerose autopsie studiò l'Epifisi e notò nel suo trattato *De sedibus et causa morborum* che le frequenti degenerazioni calcaree riscontrate nell'Epifisi, raramente si accompagnavano a malattie mentali. Alla luce delle attuali conoscenze il fatto si spiega con la capacità di tante altre strutture biologiche, di produrre il principale increto dell'Epifisi, la MLT.

Il prodotto epifisario fondamentale, multifunzionale e più studiato, è la Melatonina (MLT), sostanza naturalmente presente nell'organismo umano, in quello di molti animali, sia mammiferi che di altre specie, e in molti alimenti, sia di origine animale, che vegetale, tra cui particolarmente banane, (46 ng /100 gr) pomodori, (50 ng 100 gr), dato evidenziato da Poeggeler nel 1995. Nel latte materno sono state riscontrate quantità nettamente più elevate di notte, in quello vaccino nelle prime ore del mattino, rispetto a quello munto la sera. Negli Stati Uniti è comunemente venduta nei 'drugstore' e negli 'health food store', e rappresenta un notevole successo commerciale, particolarmente evidente dopo l'interesse e l'ampia diffusione di pubblicazioni sui molteplici effetti della MLT. Dagli USA l'interesse per questa molecola si è rapidamente diffuso a tutto il mondo con milioni di consumatori.

La MLT rappresenta il principale, anche se non l'unico increto dell'Epifisi, per gli effetti fisiologici, l'interesse e il numero degli studi che ha suscitato, dovuti all'entità e importanza degli effetti della molecola, che incidono su molteplici funzioni biologiche, in quasi tutti gli esseri viventi, con meccanismi ed entità diverse nelle varie specie animali. La MLT interferisce sui meccanismi biologici, neuroendocrini, immunomodulatori, sul sistema nervoso centrale e

periferico, sull'innervazione sensitiva e motoria, somatica e viscerale, sugli scambi emo-tissutali e sugli equilibri elettrolitici, gli scambi idrici, il tutto modulato in ritmi circadiani.

La prima pubblicazione monografica sull'Epifisi risale al 1954, si deve a Kitay e Altschule ed evidenzia l'influenza della ghiandola sulle gonadi, la pigmentazione cutanea, il comportamento. Studi Di Foà, risalenti al 1912, avevano dimostrato che l'asportazione precoce dell'Epifisi in pulcini, provocava ipertrofia della cresta e dei testicoli. Qualche anno prima, nel 1910, le pubblicazioni di Pellizzi e Pende sulla *Rivista Italiana di Neuropatologia*, avevano descritto la "Sindrome di Macrogenitosomia precoce" in casi di deficit funzionale epifisario. Kraebe, *Endocrinology*, 1923, confermò l'influenza dell'Epifisi sulla sfera sessuale, studiando gli effetti di tumori epifisari, ependimomi, astrocitomi, oltre che dell'epifisi, di aree cerebrali contigue e funzionalmente interagenti, come la lamina quadrigemina, l'infundibulum, la neuroipofisi, il terzo ventricolo, l'acquedotto di Silvio. Queste localizzazioni neoplastiche provocano pubertà precoce e diabete insipido, come evidenziato da Kitay e Altschule nella monografia *The pineal gland*, Harvard Univ. Press, Cambridge. Wurtman e AA (1966) studiarono in un tumore epifisario ectopico gli aspetti biochimici fondamentali della ghiandola.

La scoperta della MLT, come spesso avviene nella storia del progresso scientifico, si può, in un certo senso, ritenere casuale, in quanto il dermatologo americano A. Lerner, dopo aver condotto studi sul Melanoforo-Stimolante-Ormone (Alfa MSH), lavorò col giapponese Takahashi all'isolamento di frazioni di estratti di Epifisi, (o Pineale), attivi sulla pigmentazione cutanea; in pratica ricercava fattori capaci di schiarire o rendere più scura la pelle. Lerner era partito dagli studi di C. McCord, che qualche tempo prima aveva scoperto l'effetto fortemente schiarante degli estratti di Epifisi bovina sulla pelle di rana. Nel 1958 individuò con Case, tra i componenti degli estratti epifisari, quello responsabile dello schiarimento della pelle degli anfibi, e lo chiamò Melatonina. Il nome deriva dall'effetto di contrazione (dal greco 'tonos') della MLT sui granuli di Melanina, contenuti in quegli aggregati cellulari di rana, melanociti, responsabili del colore nero della pelle. Perciò il termine Melatonina deriva dall'azione sulla Melanina (Mela) in senso riduttivo (tonina). La denominazione ricorda anche la Serotonina, cui è molto simile chimicamente, e il pigmento cutaneo, la Melanina.

Nel 1959 Lerner con Case e Heinzelman, furono in grado di individuarne la formula chimica: 5-metossi-n-acetil-triptamina. Essa è una delle quattro frazioni isolate dall'Epifisi, chimicamente affini anche per la presenza di un anello indolico: 5-metossitriptofolo, 5-metossitriptamina, 5-metossindolacetico. Ognuna di queste molecole segue un proprio ritmo secretivo nell'arco della giornata (ritmo circadiano). La prima raggiunge la massima concentrazione alle ore 12, la seconda la sera, la terza nelle primissime ore del mattino. La MLT (5-metossi-n-acetil-triptamina) viene

prodotta di notte circa 10 volte più che di giorno, (con un ritmo oscillatorio circadiano) partendo da un amminoacido essenziale, (cioè che il nostro organismo deve introdurre non essendo in grado di sintetizzarlo) il Triptofano, contenuto soprattutto negli alimenti ricchi di proteine quali carne uova, latte e derivati ecc. Pertanto nel nostro organismo la produzione di MLT è strettamente condizionata anche dall'alimentazione. Si deve ad Axelrod nel 1960 l'individuazione dei passaggi metabolici che dal Triptofano, per mezzo di sistemi enzimatici, (tra cui N-acetil transferasi, idrossindolo-o-metiltransferasi), portano all'Idrossitriptofano, alla Serotonina e infine alla MLT.

In sintesi i passaggi e le reazioni che trasformano il Triptofano in MLT sono:

- A) Ossidazione mitocondriale del Triptofano da parte della Triptofan-5-Ossidrilase a 5 Ossitriptofano, in presenza di Tetraidrobiopterina, pigmento naturale simile alla Riboflavina o B2.
- B) Decarbossilazione dell'Ossitriptofano a 5 Ossi-Indol-Etilamina detta indifferentemente Serotonina o Ossitriptamina in presenza di Piridossalfosfato (B6)
- C) Acetilazione della Serotonina da parte della NAT (N-Acetil-Transferasi) utilizzando l'Acetile dell'Acetil-Coenzima A, e successiva metilazione del derivato a opera della HIOMT (Hidrossi-Indolo-Ossigeno-Metil-Transferasi) col gruppo metilico ceduto dall'Adenosin-Metionina.

Questa sintesi della MLT dal Triptofano non avviene, come si credeva fino a qualche tempo fa solo nell'Epifisi, ma anche nella retina, nelle ghiandole di Harder, nelle piastrine, nei megacariociti, nell'apparato gastroenterico. La MLT, nella sua distribuzione e attività, essendo spiccatamente solubile e agendo su terminazioni nervose, su cellule dotate di capacità endocrina, è ubiquitaria, interagisce con altri mediatori, a livello recettoriale, costituendo uno dei meccanismi di regolazione della vita integrata. E' attiva sul metabolismo intermedio, con influenza dal e sul sistema nervoso centrale. Non è la MLT come tale, responsabile di tutto ciò, ma il cerchio delle reazioni che sostiene e promuove e le relative ripercussioni sulla morfologia e biochimica cellulare.

Una caratteristica dell'Epifisi e della MLT è quella di non possedere azioni univoche, peculiari, specifiche, come altre ghiandole endocrine, e ciò non per scarsa significatività fisiologica, ma per l'enorme poliedricità degli effetti e la molteplicità pluridistrettuale e tissutale dei vari apparati biologici che ne sono influenzati. Essa è veicolata nel sangue da complessi proteici. Studi sperimentali hanno cercato di determinare la dose letale di MLT (DL 50) somministrando fino a 3200 mg/kg nel ratto e successivamente oltre 6000 mg in volontari (corrispondenti a circa mille volte i dosaggi terapeutici), senza riscontrare alcun inconveniente e giungendo alla conclusione che la MLT è priva di tossicità sia a breve che a lungo termine, come verificato monitorando per anni le persone che avevano collaborato alla ricerca. Anche la somministrazione diretta per via endovenosa

di 250 milligrammi al giorno, per una settimana, non ha prodotto effetti tossici, nè immediati, ne ritardati, come si concluse dopo controlli annuali per 18 anni. Gli effetti della MLT non sono esclusivamente dose-dipendenti, ma risentono dell'ora della somministrazione. Lerner e Nordlund in 96 volontari, monitorati per 18 anni, non riscontrarono alcun effetto tossico, giungendo a somministrare seimilaseicento milligrammi al giorno per 35 giorni (il corrispettivo di centosessantacinque milioni di Epifisi di bovini), senza registrare alcun apprezzabile inconveniente. Parecchie migliaia di persone, da decenni, usano la MLT senza inconvenienti di sorta, con benefici, senza che sia mai stato denunciato alcun caso d'intossicazione. L'assenza di tossicità della MLT è dovuta alla sua derivazione da un principio comunemente assunto con le proteine alimentari, il Triptofano, la sintesi della MLT avviene in cellule ad altissima dignità funzionale, con assenza di metabolici tossici, la MLT, come la molecola da cui direttamente deriva, la Serotonina, si deposita in alta concentrazione all'interno delle cellule, soprattutto piastrine e Megacariociti. Per questi meccanismi il tasso plasmatici di MLT non raggiunge picchi abnormi.

La MLT è una piccola molecola del peso molecolare di poco più di 250, per cui è semplice, atta a infiltrarsi agevolmente nei liquidi intercellulari e all'interno delle stesse cellule in cui sono stati scoperti recettori ampiamente diffusi in vari tessuti, sia di membrana che nucleari, ulteriore conferma del ruolo primario e delle molteplici funzioni svolte da questa molecola ubiquitaria. Essa è pressoché insolubile in acqua, mentre si scioglie in alcol etilico. Essendo l'assorbimento e la biodisponibilità legati alla solubilità, nella formulazione del Prof. Di Bella la MLT è unita con un legame di Idrogeno all'Adenosina, divenendo così perfettamente solubile, assimilabile, e potenziata nella sua attività.

Caratteristica della MLT è anche la tendenza a decadere dalle sue proprietà fondamentali se colpita dalla luce, è tanto più fotolabile quanto più finemente è disciolta fino allo stato molecolare. E' anche termolabile e sensibile a temperature superiori ai 26°. Per il Pr. Di Bella che è il massimo conoscitore della fisiologia e delle indicazioni terapeutiche della MLT, la sua attività non è immediatamente evidente, conclamata, ma difficile da mettersi in evidenza per le sue molteplici funzioni e perché la sua azione si estrinseca selettivamente nel tempo, per cui non è l'ora o il giorno, ma le settimane e i mesi l'intervallo temporale in cui può pienamente evidenziarsi il suo effetto. Ciò ha complicato la comprensione delle sue proprietà e del meccanismo d'azione. Anche la sua quantità nel sangue non riveste alcun valore assoluto, per la presenza di alte concentrazioni di MLT nei tessuti e a livello intracellulare, soprattutto nelle piastrine. Per cui il dosaggio ematico della MLT può essere un valore ingannevole perché non tiene conto di tutta la MLT presente nei tessuti. Un dato essenziale scoperto circa 30 anni fa dal Prof. Di Bella è la stretta interazione funzionale tra MLT e piastrina, elemento essenziale per il suo trasporto, metabolismo e cessione. E'

pertanto un assurdo per certi aspetti considerare la MLT prescindendo dalla piastrina. Quindi dire piastrina sotto certi aspetti, vuol dire anche MLT e viceversa. Quest'associazione è rigorosa, indispensabile, per poter comprendere una quantità di fenomeni essenziali non solo per la fisiologia del sangue, ma di tutti i tessuti, in particolare del sistema nervoso sia centrale che periferico. Pertanto il supporto funzionale della MLT è la piastrina che la veicola in strutture del suo citoplasma, i "corpi densi", chimicamente coniugata all'Adenosina da un legame chimico d'Idrogeno, che non ha la forza di quello interatomico covalente, ionico o metallico, ma è più debole. Esso rappresenta la maggior forza di coesione tra molecole contenenti gruppo NH₂ e OH, con altre contenenti gruppi CO e OH. Il legame d'idrogeno è più forte delle forze di Van Der Waals, è relativamente aspecifico, poco energetico (3Kcal/mol), impiega qualche miliardesimi di secondo per disintegrarsi e perciò può rapidamente intervenire nei processi di riconoscimento intermolecolare. Sono proprio le caratteristiche del legame d'idrogeno che consentono alle piastrine la captazione o la cessione di MLT o Serotonina, in base alla loro concentrazione plasmatica, infatti quando MLT e Serotonina decrescono nel plasma, le piastrine, con meccanismo omeostatico, mobilizzandole molecola per molecola dai loro depositi nei Corpi Densi, modificano contestualmente forma e struttura (shape change), aumentando la loro adesività. Cedendo la MLT, le piastrine intervengono nel trofismo e nel metabolismo degli endoteli che tappezzano i vasi sanguigni. Le piastrine hanno vita breve, in media 12 giorni, e devono continuamente essere sostituite da quelle prodotte dai Megacariociti nel midollo osseo. Un uomo sano dispone di circa mille miliardi di piastrine, che strisciando lentamente sull'endotelio vasale, nell'arco dei loro 12 giorni di vita, si dissolvono lentamente, liberando nel torrente circolatorio i principi essenziali per l'integrità endoteliale. E' noto da tempo il ruolo centrale della piastrina nei processi emocoagulativi, al di sotto di un certo numero di piastrine iniziano manifestazioni emorragiche. Se il paziente è carente, piastrinopenico vi è insufficiente produzione midollare da parte dei Megacariociti. Su essi selettivamente agisce la MLT, sulla loro capacità sia di produrre le piastrine, che di maturarle, e infine liberarle e immetterle in circolo. In queste situazioni la MLT è insostituibile, interviene in maniera decisa su tutte le fasi: produzione, maturazione, liberazione. Essendo malattie che confinano con la morte, è sorprendente che a 30 anni dalle prime pubblicazioni del Pr. Di Bella non ci sia un impiego diffuso della MLT nelle piastrinopenie, malgrado le ulteriori, recenti conferme della letteratura medico scientifica mondiale. Il meccanismo, individuato dal Prof. Di Bella, con cui in questi casi agisce la MLT, consiste nel fornire al Megacariocita energia chimica, sotto forma di esteri dell'Adenosina (cui è collegata da legame d'Idrogeno) con l'acido fosforico del deriboso come AMP, ADP o ATP, che consentono la maturazione e la contrazione di quel reticolo contrattile di Actimiosina del Megacariocita che porta alla frammentazione della sua membrana cellulare e alla

liberazione delle piastrine. La MLT pertanto, legata e solubilizzata dall'adenosina, può veicolare quell'acido Adenosintrifosforico componente essenziale dei nucleotidi e degli acidi nucleici, elementi base dei codici genetici sia nucleari che mitocondriali, chiave e passaggio obbligato della protidosintesi e pertanto della proliferazione cellulare. Ciò spiega come l'azione della MLT si spinga fino ai centri regolatori della vita. Questo è l'anello di correlazione individuato dal Prof. Di Bella, tra MLT, Adenosina, piastrine, e tutto quello che avviene a livello dei nuclei per la formazione del Desossiribonucleicoacido o DNA e Ribonucleicoacido o RNA. Lerner non ipotizzò alcuna delle complesse e numerose attività e proprietà che conferiscono alla MLT un ruolo primario in funzioni vitali, che possiamo così sommariamente sintetizzare:

A) Azione antitumorale indiretta attraverso :

1. Azione antiradicali liberi e antiossidante

Ormai numerose conferme nella letteratura evidenziano il ruolo della MLT come "scavenger" (spazzino) intracellulare e di membrana per i radicali liberi con la protezione del DNA nucleare dal danno ossidativo, provocato da carcinogeni chimici o radiazioni ionizzanti: Hardeland, Meyer, Reiter, *J. Pineal Res.*, 1995; Melchiorri, Reiter e AA, *Life Sci.*, 1995; Poeggeler e AA. *Neuroendocrinol. Lett.*, 1995; Panzer e AA. (115), *Journal of Pineal Research*, 1997; Lissoni, Maestroni, Conti, Barni (83), *Supportive Care in Cancer*, 1997; El Missiry, *Cancer Letters*, 2000; Reiter e AA., *Biological Signals & Receptors*, 2000; per citare solo alcuni dei tanti autori che hanno pubblicato sul tema. L'effetto antiradicalico della MLT, sinergico a quello della vit. E, protegge l'intera cellula dallo stress ossidativo con vari mezzi, tra cui il potenziamento di sistemi enzimatici quali la Glutazione Perossidasi, l'aumento della sintesi del mRNA e conseguentemente la superossidodismutasi. Esperimenti in vitro hanno accertato definitivamente l'effetto inibente della MLT sulla perossidazione lipidica. Ulteriore conferma deriva dal dato accertato che l'elevatissimo incremento di radicali liberi e relativi danni, indotto dalla chemio, è in parte contenuto dalla MLT come si evince dalle numerose pubblicazioni su prestigiose riviste da parte dei ricercatori della divisione di radioterapia oncologica dell'Ospedale di Monza e loro collaboratori, tra cui: Lissoni, Barni, Mandala, e AA. (76), *European J. of Cancer*, 1999; Lissoni, Brivio e AA., *European Urology*, 2000; Barni e AA (7), *Oncology*, 1995; Lissoni e AA (77), *Br. J. Cancer*, 1994; dato confermato da molti altri autori.

Un aspetto rilevante della prevenzione è relativa all'azione dei campi magnetici (EMF) e alla eventualità di una loro azione oncogena e/o degenerativa. Sono stati ipotizzati vari meccanismi d'azione, tra cui un'interferenza con la sintesi e l'attività della MLT. Rischi sanitari derivanti dall'esposizione a radiazioni non ionizzanti e le possibili misure di prevenzione sono stati oggetto di

numerosi studi, convegni e commissioni su campi elettromagnetici e/o elettrici. Per dare qualche cenno sommario, informativo circa i campi elettromagnetici è opportuno considerare che le cariche elettriche statiche generano un campo elettrico, mentre se in movimento, producono un campo magnetico. Se un elettrodomestico collegato dalla spina alla presa di corrente è spento, produce solo un campo elettrico, se è in funzione, induce un campo magnetico, per la progressione della corrente elettrica lungo il filo. Pertanto campi elettrici e magnetici generalmente coesistono, mentre la definizione di campo elettromagnetico si riferisce ai campi elettromagnetici alternati. Le unità di misura dei campi elettromagnetici comprendono la lunghezza d'onda, espressa in metri e la frequenza, definita in hertz. La gamma delle frequenze e lunghezze d'onda naturali o artificiali si definisce spettro elettromagnetico, che comprende campi elettromagnetici a frequenze molto basse, come quelli indotti da linee elettriche ed elettrodomestici, a frequenze più elevate, come radiofrequenze, telefoni cellulari, ripetitori televisivi, forni a microonde, i raggi infrarossi, le radiazioni luminose della luce naturale,. I campi magnetici ad altissima frequenza sono indotti da raggi X, ultravioletti e gamma. Gli effetti biologici sono relativi alla frequenza dei campi magnetici, infatti esiste un rapporto di proporzionalità diretta tra frequenza ed energia elettromagnetica, che cresce col crescere della frequenza. Alte frequenze come quelle dei raggi ultravioletti, X, e gamma, si definiscono "Ionizzanti" in quanto inducono una ionizzazione di atomi e molecole, con incremento dei radicali liberi, e possono essere responsabili di danni devastanti e irreversibili a livello soprattutto del DNA nucleare e mitocondriale, delle membrane cellulari e dei loro canali ionici e potenziali di superficie relativi. I CEMBF, (Campi elettromagnetici a bassissima frequenza) hanno energia insufficiente a produrre una ionizzazione atomica o molecolare. Le differenze tra campo elettrico e magnetico CEMBF, derivano dalla possibilità di schermare quello elettrico e di scaricarlo attraverso le superfici e le parti del corpo a contatto con l'ambiente circostante e il terreno. Il campo magnetico, al contrario è difficilmente schermabile, attraversa ogni materiale, e induce correnti elettriche secondarie corporee circolari. L'indipendenza del campo elettrico da quello magnetico alle frequenze particolarmente basse, consente di considerare separatamente gli effetti delle due forze, e spiega l'interesse scientifico per lo studio delle CEMBF. La misura del campo elettrico è il Volt/metro, quella del campo magnetico, il Tesla(T) o Gauss(G), Un T equivale a 10 G. Generalmente l'esposizione ai campi magnetici è sensibilmente inferiore ai T e ai G, per cui si usano i Microtesla, corrispondenti a un milionesimo di T, oppure i milligauss, corrispondenti a un millesimo di G.

I metodi d'indagine attualmente seguiti comprendono sperimentazione su volontari sani che si espongono a campi elettromagnetici (esposizione limitata in qualità e potenza per motivi etici) e studiano gli effetti fisio-biologici e psicologici. Sono stati condotti anche studi su animali,

generalmente mammiferi, prevalentemente roditori. Anche numerosi esperimenti in vitro, su colture cellulari umane, hanno analizzato le modificazioni delle concentrazioni ioniche, dei radicali liberi, del passaggio di segnali nel nucleo, modificazioni dell'informazione genetica. Questi studi, pur non essendo trasferibili integralmente e automaticamente all'uomo, hanno comunque fornito numerosi dati scientifici interessanti, che costituiscono la maggior parte delle conoscenze che abbiamo sugli effetti biologici dei campi magnetici. Sono stati condotti anche numerosi studi epidemiologici per stabilire relazioni causali tra esposizione ad EMF e patologie varie, relativi ad esposizione cronica agli EMF di persone abitanti in prossimità di linee o impianti elettrici, confrontati con gruppi di controllo. L'attendibilità di questi studi è condizionata dal numero dei casi esaminati e dalle tante concause che possono interagire. E' necessario identificare e isolare la causa primaria delle eventuali patologie, per escludere cofattori inquinanti la significatività dello studio, come inquinamento atmosferico ambientale, situazioni climatiche, consuetudini alimentari, radioattività del suolo, ecc.

Nel manuale medico "Cancer Medicine", si fa riferimento a studi sperimentali sugli effetti dei CEMBF, concludendo che non vi sono risultati certi e definitivi. In particolare, studi di laboratorio relativi ad un'azione diretta dei CEMBF sul DNA, e sui codici genetici del nucleo cellulare, hanno dato risultati negativi. L'unico dato certo sarebbe un'inibizione dei CEMBF sul rilascio di MLT, con riflessi sull'equilibrio neuroendocrino. Un abbassamento del tasso ematico di MLT, ormai comunemente considerata una molecola oncostatica biologica, fisiologica, potrebbe favorire l'insorgenza di neoplasie. L'ipotesi riguarda particolarmente quelle ormono-dipendenti per la capacità della MLT di diminuire la quantità in circolo di prolattina, potente fattore di crescita cellulare e di proliferazione neoplastica, degli estrogeni e del testosterone. Gli estrogeni nei tumori mammari, e dell'utero, rappresentano fattori determinanti per una rapida proliferazione e diffusione tumorale, così come lo è il testosterone nelle neoplasie prostatiche e testicolari. Pertanto i CEMBF, attraverso la riduzione della MLT e la relativa attivazione prolattinica, estrogenica e del testosterone favorirebbero l'insorgenza e la progressione di tumori ormono-dipendenti. Gli studi di laboratorio, e gli esperimenti condotti prevalentemente su ratti, sono insufficienti e inadeguati ad una diretta quantificazione del rischio cancerogeno. Un'ampia serie di ricerche standardizzate è appena iniziata negli USA e in Europa. Gli studi epidemiologici sui CEMBF a livello internazionale, su varie popolazioni, con gruppi di controllo, sono oltre 70. Queste ricerche hanno riguardato varie situazioni espositive sia di residenti in prossimità di linee elettriche ed installazioni elettriche, che esposizioni professionali. Complessivamente i risultati non hanno carattere definitivo ma orientativo, e avrebbero individuato una qualche relazione tra CEMBF ed incremento di rischio di leucemie (secondo Feychting e Ahlbom, dose dipendente) e di tumori cerebrali soprattutto in

bambini. Nelle persone professionalmente esposte ai CEMBF, avrebbero accertato incremento del rischio di leucemie, di linfomi, di tumori del sistema nervoso e di tumori della mammella nel maschio, neoplasia particolarmente rara. E' bene sottolineare che questi rischi sono relativi a livelli di esposizione superiori a 0,2 microtesla. E' bene sottolineare che questi dati non sono accettati come certi dalla comunità scientifica, ma ampiamente contestati. Infatti la normativa internazionale vigente fa riferimento alle direttive emanate dall'International Non-Ioning Radiation Committee of the International Radiation Protection Association (IRPA-INIRC). I limiti espositivi indicati da IRPA-INIRC, relativamente agli effetti acuti dei CEMBF, sono, per la popolazione, di 100 microtesla per tutta la giornata e 1000 microtesla per esposizione temporanea nell'arco della giornata. Per le persone che svolgono la loro attività in ambienti esposti ai CEMBF, per tutta la giornata lavorativa, i limiti sono di 500 microtesla per tutta la giornata e di 5000 microtesla per esposizioni brevi e occasionali. L'IRPA-INIRC, non prende in considerazione danni da esposizione cronica, o a lungo termine, affermando non esservi alcuna evidenza scientifica di un rapporto causale tra esposizione ai CEMBF e cancro. F. Marinelli, del CNR, in una relazione del 1997 sugli effetti biologici dei campi elettromagnetici, pur riconoscendo la prevalenza di una corrente di pensiero scientifico che nega affetti cancerogeni documentati ai CEMBF afferma che recentemente un certo numero di studi tenderebbe a riconoscere effetti negativi dei CEMBF sulla salute., soprattutto relativi a incremento di disturbi nervosi e calo del rendimento.

Sem, nel 1980, mediante studi di elettrofisiologia, avrebbe accertato un ruolo negativo dei campi magnetici sull'increzione e il tasso di MLT, che secondo Walzer sarebbe secondario all'inibizione di meccanismi enzimatici come la N. Acetil Transferasi, necessari per la sintesi della MLT. E' logico che le EMF agiscano sia direttamente sui sistemi biologici, che su elementi capaci d'influenzarli, anche se entità, modalità, effetti, sono ben lontani dall'essere chiariti, malgrado l'interesse e un'impressionante mole di studi relativi. Le molteplici varianti rendono più ardua l'acquisizione di certezze. Ad esempio, il grado d'isolamento degli esseri viventi, l'effetto dell'abbigliamento sulla costante dielettrica, le variazioni dell'entità e durata della conduttività per vari contatti di parti del corpo, interagiscono e condizionano l'effetto delle EMF. Esistono altre varianti come la variazione d'intensità dell'EMF nel tempo e nello spazio che interagisce con mutevole reattività ed entità del campo magnetico prodotto dall'organismo umano. E' mutevole anche l'effetto dell'EMF sui diversi sistemi biologici di ogni singolo individuo. Per questi motivi la ricerca scientifica non è ancora pervenuta ad alcuna certezza sulle ripercussioni dell'EMF con dati spesso fortemente contraddittori. Se infatti alcuni Autori come Bonnel, Norris, Stevens, hanno individuato un rapporto causale tra esposizione a campi elettromagnetici e insorgenza di tumori, in particolare della mammella, altri come Reiter e i relatori del Congresso internazionale di Colonia

sulle EMF, negano il rapporto EMF-cancro per l'assenza di documentazioni sperimentali o studi epidemiologici relativi. E' più documentato solo il rapporto tra campi magnetici e decremento di MLT nel plasma.

Il Simposio Internazionale sulle EMF a bassa frequenza, MLT, cancro, tenuto il 4 - 5 maggio del 2000 presso l'Università di Colonia, in Germania, radunò alcuni dei massimi esperti sui campi elettromagnetici, per discutere i possibili meccanismi d'induzione del cancro. Il congresso ha stimolato una discussione critica e multidisciplinare sul tema delle EMF e sull'effetto dei campi magnetici a bassa frequenza (50\60 Hertz). Le conclusioni unanimesi dei congressisti di 14 paesi, portano a ritenere che al momento "non vi siano sufficienti prove sperimentali, che i campi magnetici a bassa frequenza, provochino rischi di cancro negli esseri umani. Si consigliano pertanto approfonditi studi epidemiologici".

Anche il noto ricercatore Reiter R.J. del "Department of Cellular and Structural Biology" dell'Università di S. Antonio, nel Texas, è giunto ad analoghe conclusioni. Egli afferma che rimangono insoluti gli interrogativi circa un eventuale danno biologico da esposizione a campi elettromagnetici, concordando che uno dei pochi dati certi, si possa ritenere la riduzione dell'increscenza di MLT per effetto di EMF, e pertanto una conseguente e maggiore probabilità d'insorgenza del cancro, essendo ormai accertato l'effetto inibitorio, attraverso molteplici meccanismi, della MLT, sull'involutione neoplastica delle cellule, e la tendenza, ormai generalizzata di considerare la MLT un agente oncostatico fisiologico. Reiter afferma che gli studi sperimentali negli ultimi 20 anni, non sono riusciti a fornire una risposta definitiva, così come lo studio di esseri umani esposti a campi elettromagnetici ha fornito risultati ambigui. Secondo Reiter uno dei meccanismi antitumorali della MLT, oltre che antiossidante e inattivante i radicali liberi, con protezione del DNA nucleare dal danno ossidativo, consiste nel ridurre l'incidenza di mutazioni e pertanto le probabilità di cancro.

Oltre che ridurre la possibilità d'insorgenza di neoplasie, la MLT agisce anche inibendo la crescita di tumori già presenti, con un'azione che coinvolge anche recettori di membrana e nucleari. Un diverso meccanismo antineoplastico della MLT, va attentamente valutato per il peso che ha nelle misure dietetiche di prevenzione dei tumori. Infatti diversi studi concordano nel ritenere che la MLT inibisca la proliferazione neoplastica, impedendo alle cellule tumorali la captazione e l'utilizzazione di acidi grassi, fattori essenziali per la loro sopravvivenza e crescita.

2. Azione antinvecchiamento e antidegenerativa sul tessuto nervoso.

Particolarmente nota, perché diffusamente descritta in libri e trattati che hanno avuto una notevole diffusione e destato interesse nell'opinione pubblica. In queste pubblicazioni si evidenzia il deciso miglioramento delle condizioni psicofisiche e intellettive dell'anziano trattato con MLT,

un minore affaticamento e maggiore resistenza all'attività psicofisica, un miglioramento nell'apprendimento, nella memoria, e una maggiore prontezza delle azioni riflesse. Viene descritto anche il ripristino della nota, ridotta ampiezza delle oscillazioni circadiane e del ritmo sonno-veglia, tipico dell'invecchiamento. Per citare alcune delle tante pubblicazioni relative: Pierpaoli, Academic Press N. Y., 1981; Pierpaoli, *Neuroimmunol.*, 1990; Pierpaoli, Regelson, Colman, "La fonte della giovinezza", Rizzoli Editore, MI, 1995; Hoffman, Illerova e AA., *Neuroscience Letters*, 1985; Reiter "L'ormone che allunga la vita", Mondadori, 1996; Maestroni, Conti, Pierpaolo (89), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1988; rilevarono il ruolo della MLT nell'attivazione del sistema immunitario nel cancro e nell'età senile. Valcavi, Zini e AA., *Clinical Endocrinology*, 1993; Reiter, *Experimental Gerontology*, 1995; Lesnikov e AA., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1994; Mocchegiani, e AA., *J Neuroimmunol.*, 1994. Nel 1993 Scovinska e AA sottolinearono il ruolo della MLT nella profilassi antitumorale. Numerosi sono anche gli studi pubblicati sull'azione della MLT nelle malattie nervose neuropsichiatriche e/o degenerative, quali nevrosi, depressione, Parkinson, Alzheimer, anoressie, bulimie, cefalee essenziali, a grappolo, emicraniche, disturbi dell'affettività. Pazienti anoressici e bulimici presentano livelli notturni di MLT variabili, da normali ad elevati, nell'eventualità di coesistenza di depressione è stata accertata riduzione dei livelli di MLT, una modificazione del tono adrenergico, più elevato durante le fasi di riacutizzazione, e ridotto nella depressione, chiarisce la discordanza dei risultati. Nordio, Isidori, "MLT e disturbi del comportamento alimentare: evidenze cliniche", relazione dagli Atti del Convegno del gennaio 1997 a Reggio Calabria: "MLT dalla ricerca agli interventi". Nel 1998 Panzer (116) pubblicò su *Med. Hypotheses* uno studio sul rapporto fra depressione, cancro, e diminuzione del tasso di MLT

Nel corso di depressione e disturbi affettivi i dati della letteratura concordano: nei depressi i livelli plasmatici di MLT risultano costantemente ridotti, con evidente contrazione del picco notturno e anomali picchi secretori diurni, gli I. M. A. O., alcuni antidepressivi e il Litio, incrementano la MLT, che in queste patologie dà risposte positive come pubblicato da vari autori tra cui: Beck Friis, *Acta Psychiatrica Scandin.*, 1985; Brismark, *Acta Med. Scand. Inav.*, 1988; Coloma, Niles, *Bioch. Pharmacology*, 1988; Eckman, *Journal Clinical Endocrinology*, 1993; De Felice, Quattrone, relazione dagli Atti del Convegno di Reggio Calabria: MLT dalla ricerca agli interventi 1997.

Analoghe risposte significativamente positive si sono registrate nelle altre patologie del sistema nervoso, con risultati potenziati, secondo l'esperienza del Prof. Di Bella dall'uso sinergico di Alfa-Tocoferile Acetato (Vit. E) in dosi giornaliere di 90 mg/kg di peso corporeo, di estere fosforico della Tiamina, Coxanturenasi, Cianocobalamina, Citicolina, Alfoscerato, Colina con risposte altamente significative negli stadi precoci di malattie demielinizzanti, degenerative, e

Alzheimer. In queste patologie la MLT gioca un ruolo essenziale, anche se, secondo il parere del Pr. Di Bella, rappresenta un elemento necessario, ma non sufficiente, della terapia, esattamente come nelle patologie neoplastiche.

3. Azione di attivazione e potenziamento delle difese immunitarie.

E' ammesso anche un ruolo attivo della MLT nell'immunità naturale, che ne verrebbe sostenuta e particolarmente esaltata soprattutto in corso di attivazione del sistema immunitario da parte di agenti neoplastici o infettivi. L'azione immunitaria si svolgerebbe prevalentemente in forma indiretta sui linfociti e monociti attraverso l'induzione e la modulazione delle citochine IL2, IL3, IL12, sull'attivazione dei linfociti T helper 2, indotti dalla MLT a produrre IL4 e IL5, così come vengono stimulate le cellule T citotossiche, T helper, quelle NK. La MLT potenzierebbe l'immunità anche attraverso l'attività citolitica LAK e il rilascio di citochine e linfochine da parte delle cellule T, M. Pianezza, "Oltre la chemioterapia", Ed. Raphael, 1998; Maestroni, "The immunoendocrine role of MLT", *J. Pineal Res.*, 1993; Mackenses e AA, *Pathobiology*, 1991; Lissoni e AA, *Cancer*, 1994; Russel e AA, "MLT l'ormone che allunga la vita", Mondatori, 1996. Nello stesso anno Skwarlo-Sonta (145) pubblicarono su *Acta Neurobiol Ex.*, uno studio relativo alle strette connessioni funzionali tra epifisi e immunità, sottolineando il ruolo oncostatico della MLT attraverso il potenziamento dell'immunità. Secondo Bartsch e coll. (8), a causa della sua azione stimolante sulle cellule dotate della capacità di potenziare l'immunità, la MLT può, insieme con altri suoi meccanismi d'azione, esercitare un'azione inibente sulla crescita del tumore. Nel 1998 Frascini e AA (42) pubblicavano su *Biol. Signals* uno studio sperimentale sulle proprietà oncostatiche della MLT attraverso meccanismi neuroendocrini e il potenziamento della capacità immunitarie.

4. Azione di modulazione neuroendocrina e circadiana.

Probabilmente è l'aspetto più conosciuto, anche se non primario rispetto alle altre attività della MLT. Si è progressivamente affermato il concetto che il livello di MLT circolante, sia il corrispettivo biologico dello stato di buio o di luce e le sue variazioni nell'arco della giornata rappresentino la dinamica ritmico circadiana dell'organismo.

Secondo il pensiero scientifico, espresso dal Prof. Di Bella in vari scritti, conferenze, lezioni magistrali gli aspetti neuroendocrini e circadiani dell'Epifisi e della MLT, si possono così riassumere: l'Epifisi è caratterizzata da grande poliedricità degli effetti e molteplicità delle strutture biologiche influenzate. Le attività e i condizionamenti che esercita sul sistema nervoso centrale, somatico e vegetativo, sono molteplici e non del tutto chiarite, varie per intensità, ritmi e durata, a volte determinanti, a volte adiuvanti. E' stata studiata l'influenza di Epifisi e MLT sulle

caratteristiche essenziali della memoria, del pensiero, della percezione, della determinazione sensoriale, per la correlazione delle varie stazioni del sistema nervoso centrale. Così come sono conosciuti gli effetti epifisari-melatoninici sull'organicità, il finalismo, l'integrazione neurovegetativa. Questi aspetti della fisiologia della pineale sono i più vasti e complessi in relazione a quelli integrativi del sistema nervoso centrale e riguardano i tempi, i ritmi, la funzione circadiana. La fisiologia epifisaria si realizza attraverso vie nervose ascendenti e discendenti, alcune di recente acquisizione, come i fasci sopraottico-ipofisari, che interagiscono con i fotocettori retinici e i sistemi chiamatici. I sistemi associativi, traducono il tempo e la memoria del tempo, nella memoria, nella registrazione, e nel collegamento con i sistemi integrativi. Limitare la funzione dell'Epifisi ad aspetti esclusivamente endocrini, significa ignorare l'entità la portata la molteplicità della fisiologia della ghiandola, caratterizzata da azioni pluriassociative-dimensionali.

Un aspetto determinante riguarda l'influenza sui potenziali di membrana cellulare della MLT nei progenitori delle piastrine, i megacariociti, che il Prof. Di Bella ha sperimentalmente studiato e comunicato a congressi. La tecnica di elettrofisiologia consiste nell'applicare microelettrodi, sotto controllo microscopico, su punti diversi delle superfici cellulari, derivandone le differenze di potenziale e studiando l'influenza su di esse della MLT, con determinanti riflessi sulla pervietà dei vari canali ionici che consentono ad esempio il transito attraverso la membrana cellulare al sodio, potassio, calcio ecc. Questa tecnica sperimentale è definita convenzionalmente "PATCH-CLAMP". Il Prof. Di Bella, alla luce dei suoi risultati sperimentali, ritiene che il mezzo più squisitamente fisiologico dell'Epifisi, non sia solo l'increzione melatoninica, ma i meccanismi elettrofisiologici legati alla MLT, come appare dai sistemi di PATCH-CLAMP, per cui la molecola di MLT, prodotta o penetrata nel pinealocita, avverte e integra i sistemi controllati attraverso "Outward-Current".

La membrana del megacariocita e forse di altre cellule nervose, regola il PATCH-CLAMP entro certi limiti, che possono forse inquadrare il gioco di preferenze e specificità d'azione della MLT. Gli organuli cellulari che legano e producono la MLT, forse attraverso l'equilibrio d'azione di massa, o altri meccanismi chimico-fisici correlati, attuano il principale meccanismo di correlazione nell'integrazione melatoninica. Non sono meccanismi semplici ed esclusivi: essi variano con la produzione e la concentrazione melatoninica, con gli equilibri di massa degli organuli cellulari e le relative costanti, con la concentrazione endocellulare e l'affinità della MLT per il citosol e i suoi organuli, con meccanismi appena intravisti o solo superficialmente indagati. La MLT e il suo metabolismo rappresentano il mezzo principale di realizzazione e d'integrazione neurovegetativa, indipendente, ma legata all'attività integrativa, associativa, proiettiva dei singoli nuclei nervosi. Attraverso la MLT possiamo spostare, ma non condizionare questi equilibri. Si tratta

di fattori dinamici, dalle imprevedibili sfaccettature, che ripetono una caratteristica essenziale del carattere e del comportamento umano (e di tanti esseri viventi) la fissità e la variabilità.

Le funzioni di tutti gli eucarioti si svolgono in maniera discontinua secondo ritmi sinusoidali, con programmi funzionali endogeni, caratterizzati da oscillazioni autonome, il cui periodo sta secondo numeri semplici con la rotazione terrestre (ritmo circadiano). I responsabili di questi ritmi autogeni, (pacemakers) negli uccelli e nei mammiferi sono delle strutture nervose, i nuclei supraottici e soprachiasmatici, che condizionano il ritmo enzimatico di formazione della MLT attraverso vie nervose. Pertanto la MLT viene formata nell'uomo secondo un ritmo circadiano autogeno, che imposta la velocità di reazione di sintesi, in senso inverso all'intensità della luce ambientale. Il bioritmo della MLT in circolo, rientra in questo meccanismo, esso è conseguente al ritmo autogeno circadiano del sistema nervoso centrale, e non è direttamente responsabile, se non come elemento integrante, dei ritmi corti circadiani della vita dei mammiferi.

Alcuni studi di anatomia comparata e istologia degli anni 50, dimostrarono che nei mammiferi e nell'uomo, l'Epifisi risulterebbe dalla trasformazione di un organo di senso sensibile alla luce e al calore, in una ghiandola a secrezione interna. Secondo questa suggestiva interpretazione l'Epifisi sarebbe la trasformazione del "terzo occhio" o occhio parietale di certi rettili. Nel 1956 W. Quay dimostrò in animali da esperimento, che la continua esposizione alla luce, causa modificazioni strutturali dei pinealociti, cioè delle cellule dell'Epifisi. Il dato fu confermato nel 1960 da Virginia Fiske che evidenziò un effetto riduttivo sull'Epifisi nei ratti da esposizione continua alla luce. Quasi contemporaneamente R. Wurtman e M. Altschule, dimostrarono in alcuni mammiferi un effetto inibitorio dell'Epifisi sulle gonadi, collegato alle fasi di estro, di ovulazione di fertilità. Per sintetizzare e semplificare le acquisizioni scientifiche sul rapporto luce-Epifisi-gonadi negli animali (non trasferibile automaticamente all'uomo) confermate anche da studi successivi di Quay, Cappers e AA sulle vie nervose che interagiscono con l'Epifisi, si può affermare che la MLT negli animali da esperimento viene prodotta soprattutto in assenza di luce, la quale ha un'accertata azione inibitoria sull'incremento di MLT e sulla funzione epifisaria.

La MLT è stata definita "darkness hormone", ormone del buio, perché prodotta soprattutto in assenza di luce. Per le sue fisiologiche funzioni coordina i ritmi circadiani, come la fame, la sete, le variazioni della pressione arteriosa, della temperatura corporea, dell'alternarsi sonno-veglia, del tono e dei movimenti della muscolatura liscia degli organi dell'apparato digerente (stomaco, tenue, colon), dell'apparato urinario (calici, bacinetti, ureteri, vescica urinaria) e dell'attività secretoria delle ghiandole sierose, mucose e miste localizzate negli epiteli aerodigestivi. I ritmi indotti o influenzati dalla MLT, possono essere anche di più lunga durata (mensile, stagionale, annuale), come quelli astrali, della gestazione, del parto, dell'allattamento, della crescita.

E' accertato un effetto inibitorio sia dell'Epifisi che della MLT sull'attività gonadica e sulla relativa increzione neuroendocrina, con risposte sensibilmente diverse in varie specie animali come accertato da numerosi studi di biologia comparata. La fertilità e la fecondazione di tanti animali è relativa ai periodi di luce-buio, come la gravidanza è legata a certi periodi dell'anno, a differenza dell'uomo su cui il sistema MLT-asse Epifisi-gonadico è diversamente regolato. Generalmente verso la fine dell'inverno e in primavera, molti mammiferi presentano una notevole riduzione del tasso di MLT, che si accompagna a incremento della fertilità e facilità di fecondazione. Si è cercato senza successo di sperimentare nell'uomo la MLT in funzione anticoncezionale, a ulteriore conferma che gli studi sperimentali di biologia comparata sulla MLT non sono trasferibili all'uomo, anche se è ammessa a questo livello un'interazione della MLT e dell'Epifisi. Infatti in qualunque periodo dell'anno, indipendentemente dall'esposizione alla luce o buio, e dal tasso di MLT, nell'uomo si può avere la fecondazione. Pertanto a causa delle differenze fondamentali con cui il messaggio portato dalla MLT è "letto" dalle diverse specie, non c'è una chiara evidenza sperimentale per ritenere che vi sia una risposta univoca alla MLT, con la conclusione che essa operi in modo diverso nelle varie specie animali e anche nell'uomo in base all'età e al variare degli equilibri biologici. Citiamo solo alcuni tra i tanti autori che hanno studiato il rapporto MLT-gonadi-Epifisi: Brzezinski e AA, *Clin. Endocrinol.*, 1987; Cavallo e AA, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1986; Kauppila e AA., *Gynecol. Endocrinol.*, 1987; Yie e AA, *Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995; Olcese e AA., *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1995; Stankov, Fraschini, Reiter, *Brain Res. Rev.*, 1991; Webley, *Reprod. Fertil.*, 1986. Ronco e AA (138) hanno pubblicato nel 1996 su *Anticancer Research*, uno studio dal titolo "The pineal gland and cancer", in cui evidenziavano sia il sovvertimento del ritmo circadiano melatoninico negli ammalati oncologici, che l'effetto oncostatico della MLT.

In ambienti fortemente illuminati, anche nell'uomo, la quantità di MLT formata è irrisoria o nulla. Attraverso quali meccanismi, vie, modalità agisce la luce? Attraverso un apparato ricettivo, la retina in cui specifici elementi cellulari, detti fotocettori, stimolati dalla luce inviano attraverso vie nervose l'impulso a centri nervosi intermediari, tra cui fondamentale il Nucleo Ottico Soprachiasmatico, struttura relativamente piccola, posta al di sopra del chiasma ottico, che riceve gli impulsi dei fotocettori retinici e attraverso vie nervose li trasmette ai nuclei delle Abenule, al mesencefalo e all'Epifisi. Quindi le tappe e il decorso delle vie nervose comprendono: fotocettori retinici, nucleo ottico, nuclei abenulari laterali e intermedi, Epifisi. Nell'uomo, come in tutti i mammiferi, la concentrazione ematica di MLT, segue un ritmo di increzione con livelli notturni sensibilmente maggiori, perché di giorno la luce, attraverso le vie nervose descritte, inibisce la produzione di MLT. Per questo si è ritenuta la MLT responsabile e regolatrice del ritmo giorno-notte, sonno-veglia e di tutte le relative variazioni fisiologiche che caratterizzano questo ritmo

circadiano. Effettivamente la MLT concilia il sonno notturno, attraverso vari meccanismi, tra cui l'innalzamento della soglia di eccitabilità dei neuroni, per cui gli stimoli giungono più attenuati. Innalzamento della soglia significa la necessità di una maggiore intensità dello stimolo affinché vi possa essere la depressione funzionale del neurone stesso. La MLT nel conciliare il sonno, in pratica, rende meno sensibili i nostri recettori neurosensoriali agli stimoli ambientali, in particolare l'azione si esplica sui neuroni mesencefalici, su quelli abenulari laterali e mediali, che sono aggregati neuronici che ricevono una quantità immensa di afferenze dalle vie ottiche, acustiche, dai sistemi ascendenti sia reticolari che extrareticolari, anche attraverso ai sistemi neuronali responsabili della percezione dell'olfatto. Si può, avere una sintesi della MLT attraverso la stimolazione delle Abenule e delle vie nervose collegate, come ha dimostrato in numerose pubblicazioni e relazioni a Congressi il Prof. Di Bella. Quindi il sistema è complesso perché si può avere un'increzione di MLT dall'attivazione di alcuni centri e vie nervose, ma si può avere un'interferenza in rapporto alla quantità e concentrazione della MLT, sullo stato funzionale neuronale, condizionando le variazioni di soglia di eccitamento e pertanto di risposta dei neuroni stessi. Sono alcuni tipi di sonno in particolare ad essere influenzati dalla MLT, soprattutto il sonno REM (Rapid-Eye-Movement), cioè il sonno che si accompagna a movimenti rapidi dell'occhio evidenziati da studi di elettrofisiologia, che si associa sempre al sogno. Nel sogno si viene ad avere una rappresentazione dei fatti, relativa solo all'attività del sistema nervoso centrale. Il sogno indotto dalla MLT, è caratterizzato dalla nettezza della percezione dei contorni delle immagini e dal colore con una rappresentazione realistica.

Alcune condizioni di più difficile delimitazione, come la sindrome depressiva stagionale, possono presentarsi con un ben delineato ritmo coincidente spesso con sensibili cali del tasso plasmatici di MLT. Essa ha un ruolo, non sempre primario, ma comunque rilevante. Una dimostrazione pratica di questa sintonia è l'attenuazione del "jet lag" più evidente volando verso oriente che verso occidente. La somministrazione di MLT migliora qualità del sonno, memoria recente, rapidità di percezione anche se in forma ed entità diversa nei singoli soggetti.

A livello neuroendocrino Tamarkin (150), in uno studio pubblicato nel 1985 da Ciba Found. Symp., evidenziò il rapporto tra MLT e asse gonado ipofisario, rilevando una riduzione del tasso di prolattina ed estrogeni secondario a somministrazione di MLT, nell'ambito di ricerche sul carcinoma mammario. Il dato fu confermato da Griffiths (50) nel 1987 negli *Acta Physiol Scand*, che evidenziò la capacità della MLT di ridurre sia l'increzione di Prolattina, che di Gh, potenziali attivatori della proliferazione neoplastica. Ulteriore conferma dell'inibizione melatoninica sull'increzione di fattori potenzialmente cancerogeni come la Prolattina, viene dagli studi di Lemus-Wilson (74), pubblicati nel 1995, "Melatonin blocks the stimulatory effects of prolactin in human

brest cancer cell growth in culture". Studi su animali in cui è stato sperimentalmente indotto un tumore, mostrano che la biosintesi e la secrezione di MLT dall'epifisi è normale, il che porta a dedurre che la MLT possa essere captata e degradata dalle cellule cancerogene. La rimozione chirurgica dell'epifisi negli animali da esperimento, stimola la crescita di tumori e ne favorisce la metastatizzazione, mentre la somministrazione di estratti epifisari, inibisce il processo neoplastico. Inoltre l'epifisectomia, accelera la proliferazione cellulare in tessuti normali.

Questi studi confermano l'importanza del ruolo dell'epifisi nella regolazione della crescita normale e patologica. E' ipotizzabile un meccanismo d'azione antitumorale dell'epifisi, anche con principi diversi dalla MLT. Infatti la somministrazione di MLT ad animali affetti da tumori indotti dall'epifisectomia, non è riuscita a inibirli tutti. Pertanto l'epifisi controlla la proliferazione cellulare fisiologica e patologica, con meccanismi anche indipendenti dalla MLT, che si rivela particolarmente attiva nei tumori controllati maggiormente da meccanismi neuroendocrini, coinvolgenti la prolattina e il sistema di risposta estrogenico (Bartsch, Meckke), pur manifestando efficacia, in grado vario, in tutte le neoplasie. Nel 1981 Lapin ed Ebels (72) evidenziarono il ruolo dell'epifisi nel condizionamento neuroendocrini della proliferazione neoplastica.

Elemento importante, anche se non unico ed esclusivo per il meccanismo d'azione della MLT, sono i suoi recettori di membrana e/o nucleari. Uno studio recente di Xi SC, e Tam ha evidenziato il ruolo dei recettori melatoninici (mt1) nell'azione antiproliferativa diretta della MLT sulle cellule di cancro umano alla prostata LNCaP androgeno sensibili, *Pineal. Res.*, 2000. Anche Jiri Vanecek, nella sua pubblicazione sui meccanismi cellulari d'azione della MLT (*Physiol. Rev.*, 1998) ha sperimentalmente evidenziato che alcuni effetti antiblastici della MLT, sono mediati da specifici recettori della membrana cellulare ad alta affinità, accoppiati a proteine che si legano Agpt. Sono state descritte due diverse proteine C accoppiate ai recettori melatoninici, una sensibile alla tossina pertussis e l'altra alla tossina colerica. Recettori Mel 1a, Mel 1b, Mel 1c, secondo Vanecek i recettori della MLT regolano diversi messaggeri secondari: cAMP, cGMP, diacilglicerolo, inositolo, ac. arachidonico e concentrazione intracellulare di Ca²⁺. La MLT regola anche i fattori di trascrizione, cioè la fosforilazione della proteina legante, elemento che risponde al cAMP e l'espressione del c-Fos. I meccanismi d'azione della MLT, anche se non sono stati interamente chiariti, coinvolgono almeno due percorsi di traduzione paralleli, uno inibente l'adenilciclasi, l'altro modulante il metabolismo del fosfolipide e (Ca²⁺)o. Relativamente ai tumori epatici, il meccanismo d'azione della MLT, sarebbe mediato dal recettore sul metabolismo degli acidi grassi insaturi.

Secondo il Prof Di Bella, la MLT va considerata nella pienezza delle sue azioni e applicazioni, valutando la sua stretta interazione con le piastrine che sono in effetti un elemento mobile,

itinerante, multifattoriale, onnipresente, eccezionalmente plastico e ubiquitario del sistema APUD (Amino Precursor Uptake Decarboxilation). Esso crea, forma, scambia le funzioni amminica e carbossilica, presenti nella totalità dei mediatori ed effettori neurovegetativi e nelle piastrine.

5. Azione sul midollo osseo.

Mieloprotettiva, con regolazione della crasi ematica e della dinamica midollare diretta principalmente sulle cellule progenitrici delle piastrine, i megacariociti, e pertanto sulla piastrinopoiesi, ma anche su leuco ed eritropoiesi e sulla formula leucocitaria. In pratica la MLT è il fattore primario della produzione, maturazione e immissione nel sangue, delle piastrine da parte del midollo osseo e anche se in misura minore, della produzione di globuli rossi, bianchi e della regolazione della formula leucocitaria, cioè dei rapporti in percentuale tra le varie serie di globuli bianchi.

La scoperta fu comunicata dal Prof. Di Bella nel 1969 ad Alghero, al Congresso Nazionale della Società Italiana di Biologia Sperimentale e i dati emersi dall'approfondimento e dal progredire della ricerca furono oggetto di pubblicazioni e comunicazioni da parte del Pr. Di Bella alla Società Medico Chirurgica a Bologna nel 1973, a New Delhi al 26° Congresso Internazionale di Fisiologia. Nel 1976, pubblicava sul Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale "Rilievi fisiologici ed effetti della MLT sulle talassemie", in cui evidenziava la funzione trofica della MLT sul midollo osseo, non solo a livello di piastrine e leucociti, ma anche di eritrociti. Nei talassemici, dopo quattro settimane di trattamento con MLT con dosi oscillanti tra 10 e 20 milligrammi, in relazione al peso e all'età, si registra un incremento di circa due grammi di Emoglobina, la cui degradazione, viene ritardata dalla MLT.

A Kioto al 16° congresso internazionale di Ematologia, nel 1978 ad Amsterdam al primo Colloquio dell'European Pineal Study, a Tokio nel 1979 al Congresso Internazionale di Ematologia, a Brema nel 1980 al International Symposium on Melatonin, a Bowral in Australia nel 1991 all'International Symposium on Pineal Hormones. Bisognava attendere il 1997 perché alcuni Autori tra cui Lissoni, Tancini Barni e AA pubblicassero uno studio che conferma pienamente la scoperta del Prof. Di Bella, dal titolo "The pineal Hormone Melatonin in Hematology and its Potential Efficacy in the Treatment of Thrombocytopenia", *Rec. Prog.*, 1997. L'anno successivo Bubenik, Blask, Reiter, Maestroni (20), confermavano il dato scientifico scrivendo nell'articolo intitolato "Prospects of the clinical utilization of Melatonin" (*Biol. Signals Recep.*, 1998) che la MLT ha una funzione emopoietica. Il dato è stato ulteriormente confermato recentemente da vari altri autori tra cui Lissoni, Tancini, Paolorossi, Barni e AA (84) in uno studio clinico di fase 2, pubblicato nel 1999 sul *Journal of Pineal Res.*, in cui si conclude che la MLT è efficace nella trombocitopenia

(scarsità di piastrine) dovuta al cancro e nel prevenire la piastrinopenia da che mio. Interessante anche lo studio pubblicato da Galnon (43) nel 1998 su *Drugs*, circa l'evidente effetto positivo della somministrazione di MLT ad ammalati in stato di cachessia neoplastica.

B) Azione antitumorale diretta attraverso molteplici meccanismi:

1. ANTIPROLIFERATIVO

(inibizione della riproduzione di popolazioni cellulari tumorali).

Interessante al riguardo la pubblicazione di Karasek e AA. (63), "Antiproliferative effect of Melatonin", *Biological Signals & Receptors*, 1999, in cui si dimostra che MLT blocca la proliferazione di cellule tumorali di adenocarcinoma del colon dei ratti, delle colture cellulari umane di tumore prostatico (D. U. 145) e di quelle del tumore umano della mammella (MCF-7). Roberts e AA. (137) sul *Journal of Pineal Research*, 2000, hanno evidenziato come colture cellulari tumorali di melanoma umano dell'uvea venivano inibite nel loro sviluppo e proliferazione dalla MLT. Rato, Pedrero, Martinez e AA (130) hanno descritto il meccanismo antiproliferativo della MLT nel cancro della mammella umano (MCF-7) attraverso il blocco dei recettori estrogenici, pubblicandolo sulla rivista *FASEB Journal*, 1999. Moretti, Marelli e AA (104) hanno pubblicato su *Oncology Reports*, 2000, un lavoro "Antiproliferative action of Melatonin in human prostate cancer LNCap cells" in cui si evidenzia l'effetto antiproliferativo della MLT sulle cellule umane di tumore prostatico (LNCap) androgeno-dipendenti. Bartsch e AA (8), "Significance of MLT in malignant diseases" (Ruolo della MLT nelle neoplasie maligne), *Wiener Klin. Wochenschr.*, 1997, hanno studiato l'effetto della MLT su alcune linee di cellule cancerose umane e murine, accertando che a dosi fisiologiche la MLT ne inibisce la proliferazione, mentre per altre varietà tumorali il blocco proliferativo si ottiene con dosi farmacologiche più elevate. Pubblicato nel 1999 su *European Journal of Cancer*, uno degli studi più significativi sull'effetto antitumorale della MLT è quello di Panzer e Viljonen (115), *Pineal Res.*, 1997, gli autori hanno sperimentato la validità della MLT come agente antiblastico, riportando una rassegna di studi in cui la MLT è stata usata in funzione antiblastica, concludendo che la MLT "può essere considerata una sostanza anticancro fisiologica". Cini, Coronello e AA (24), *Cancer Letters*, 1998, hanno pubblicato uno studio sperimentale sull'effetto inibitorio della MLT nei tumori del fegato Epatoma AH-130, che produce ascite, concludendo che "la MLT ha inibito la proliferazione cellulare e raddoppiato il tempo medio di vita, raddoppiando la sopravvivenza". L'elenco potrebbe continuare perché questa linea di ricerca è particolarmente seguita, con risultati e pareri concordi.

2. PROAPOPTOTICO

(rapido ricambio cellulare attraverso una forte accelerazione dell'invecchiamento e della morte programmata delle cellule tumorali).

E' stato accertato da vari autori anche l'effetto inibente della MLT sull'espressione genica da parte del DNA e la trascrizione genica da parte del RNA di geni oncogeni, cioè di quelle sostanze capaci d'indurre la trasformazione di cellule sane in neoplastiche.

El Missiry e AA. hanno studiato l'effetto della MLT sulle cellule del carcinoma epatico ascite di Ehrlich (EAC), notando che non solo ne riduceva vitalità e volume, aumentando la sopravvivenza degli animali da esperimento, ma che induce apoptosi nelle cellule tumorali EAC, *Cancer Letters*, 2000. Un dato clinico significativo emerge da uno studio su 250 ammalati di varie forme neoplastiche metastatizzate, avanzate, pubblicato da Lissoni, Barni e AA (76) nel 1999 su *European Journal of Cancer* in cui il tasso di sopravvivenza a 1 anno, e il tasso di oggettiva regressione, del tumore erano molto più alti nei pazienti trattati anche con MLT, rispetto a quelli che avevano ricevuto solo la chemio. Inoltre la somministrazione di MLT, ridusse in maniera significativa trombocitopenia (scarsità di piastrine), neurotossicità, cardiotoxicità, stomatiti e astenia.

Mediavilla, Sancez-Barcelo e AA (91), hanno studiato un'interessante modalità d'azione oncostatica della MLT, attraverso l'attivazione e l'incremento di geni soppressori p21 WAF1 E P 53 che agiscono arrestando il ciclo riproduttivo cellulare tumorale. Sono state studiate le cellule del tumore umano della mammella MCF 7 e accertato, che a concentrazioni fisiologiche, dopo 48 ore la MLT riduce il numero e la vitalità delle cellule neoplastiche. Lo studio è stato pubblicato nel 1999 sulla rivista *Life Sciences*. L'anno precedente Melen-Mucha e AA (92) avevano pubblicato su *Anticancer Research* uno studio sull'effetto della MLT, insieme alla Somatostatina, sul cancro murino del colon (Colon-38-cancer), evidenziando oltre l'effetto antiproliferativo, un'evidente azione proapoptotica, confermata da altri autori come Eck, Yuan e AA (34), che nel 1998 hanno pubblicato sul *British Journal of Cancer* uno studio sperimentale dal significativo titolo "A sequential treatment regimen with melatonin and all trans retinoic acid INDUCED APOPTOSIS in MCF-7 tumors cells".

E' stato studiato l'effetto della MLT insieme all'Ac. Retinoico sulle cellule del tumore della mammella ormono-dipendenti MCF-7e si è notata la completa cessazione della crescita cellulare e una riduzione del numero delle cellule. Gli autori concludono che il trattamento della MLT, seguita da Ac Retinico ha indotto effetti di morte cellulare sulle cellule MCF-7 tramite l'attivazione dell'apoptosi.

Al 7° Eur. Pin. Soc. Colloquium a Sitges, 1966, diversi autori tra cui Mediavilla e Barcelo-Sanchez hanno presentato relazioni sull'effetto oncostatico della MLT, e sulla sua proprietà di inibire la diffusione metastatica delle cellule tumorali. L'azione si realizza attraverso una ridotta

attrazione per la Fibronectina. Nello stesso convegno, fu dimostrato anche che alcuni geni oncogeni, perciò sostanze capaci d'indurre l'involuzione neoplastica cellulare, tra cui RAS, ERB, IUNG, sono significativamente inibiti dalla MLT e sono espressi in quantità fortemente ridotta dall'adenoipofisi di animali trattati con MLT. L'azione antiblastica si svolgerebbe non solo attraverso l'inibizione dell'espressione genica da parte del DNA, ma anche della trascrizione genica da parte del RNA. Quindi un'azione genica antitumorale della MLT è un dato scientificamente confermato, essa pertanto può svolgere non solo un'azione preventiva, ma sotto diversi aspetti curativa delle neoplasie, anche a distanza dalla cellula neoplastica. Dagli studi e dall'esperienza clinica del Prof. Di Bella e collaboratori e da un'impressionante quantità di studi clinici e sperimentali di cui abbiamo dato un sintetico cenno, emerge chiarissimo il dato che la quantità di cellule neoplastiche che i tessuti possono elaborare e liberare, è condizionata dalla funzione inibente antitumorale della MLT dalla sua concentrazione nel sangue e nei tessuti.

Il concetto è ripreso da Pianezza nella monografia "Cancro oltre la chemioterapia" in cui considera l'effetto antineoplastico e proapoptotico della MLT anche attraverso i suoi recettori che in misura crescente sono individuati a vari livelli. Due recettori ad alta affinità per la MLT sono stati identificati e clonati a livello delle membrane cellulari. Sono di natura proteica con sette domini transmembrana e sette siti specifici di fosforilazione protein-chinasi C dipendente, sei dei quali sono localizzati sui domini intracellulari del recettore. Per le sue caratteristiche chimiche e il basso peso molecolare, la MLT riesce a diffondere facilmente sia nei liquidi extracellulari che dentro le cellule stesse, in cui sono stati individuati recettori, oltre che di membrana, a livello nucleare appartenenti ai "recettori nucleari orfani di legandi". Alcuni di questi recettori la MLT li ha in comune con i retinoidi (recettore del retinoide Z beta). Questi recettori nucleari melatoninici sono particolarmente diffusi nel sistema nervoso centrale, con particolare concentrazione nell'Epifisi, nel Talamo, Ipotalamo, Nucleo soprachiasmatico, corteccia cerebrale, Collicolo superiore, Abenule, Pars tuberalis, adenoipofisi, cervelletto. Al di fuori del sistema nervoso i recettori di membrana per la MLT, sono stati individuati nelle gonadi, piastrine, megacariociti, leucociti, piastrine, cellule intestinali, prostatiche, tubulari renali, miociti cardiaci. Per la continua individuazione di nuovi recettori melatoninici sia di membrana che nucleari è ipotizzabile una loro presenza pressoché ubiquitaria a ulteriore conferma del ruolo primario della MLT in funzioni vitali. Alcune proprietà chimiche metaboliche legate a questi recettori possono aiutare a comprendere il meccanismo d'azione antitumorale della MLT. Infatti il Prof. Di Bella, anticipando anche in questo le attuali acquisizioni, nel suo libro "Cancro, siamo sulla strada giusta?" afferma che "il più probabile o frequente meccanismo d'azione delle chaperonine nei tumori dovrebbe estrinsecarsi attraverso l'idrolisi di ATP, ADP, AMP, in legame con l'Adenosina o in legame d'idrogeno con la MLT" e

conclude che l'effetto principale della MLT dovrebbe consistere nel disporre ubiquitariamente gli esteri fosforici di AMP, ADP, ATP. Ormai si ammette che la MLT influenza l'attività cellulare agendo principalmente sugli esteri fosforici dell'Adenosina e su altri sistemi di traduzione di segnale quali:

- Inibizione della adenilatociclastasi mediata dalle proteine C.
- Inibizione della mobilizzazione di Ca²⁺.
- Inibizione del rilascio di Ac Arachidonico.
- Stimolazione della Proteina-Chinasi C.
- Apertura dei canali di potassio.

Come evidenziato dalla già citata monografia di Pianezza in conclusione alcuni degli aspetti metabolici antitumorali della MLT consisterebbero nella stimolazione della protein-chinasi C con azione diretta legata al recettore Mel 1\G proteins, e azione indiretta attraverso il legame col proprio recettore e induzione di AMPc e una cascata di eventi: Idrolisi del Fosfoinositolo, produzione di diacilglicerolo e Inositolo 1-4-5- trifosfato.

3. Antimetastatico

Sia attraverso l'aumento dell'adesività delle cellule neoplastiche tra loro e riduzione della loro tendenza a diffondersi, che attraverso l'azione di attivazione e trofismo dell'endotelio vasale che per effetto della MLT, diviene molto meno permeabile alle cellule tumorali e alla loro migrazione dal sangue ai tessuti.

Il fenomeno è stato spiegato dal Pr. Di Bella alla Conferenza Nazionale che ha tenuto a Roma il 17 e 18 luglio 1997. Egli si è soffermato ed ha sottolineato l'intima connessione e interazione funzionale tra MLT, piastrina, ed endotelio, responsabile della regolazione fisiologica dell'aggregazione piastrinica. Individuando una vitale e sconosciuta azione delle piastrine, quella cioè di essere veicolo primario e ubiquitario di MLT, Serotonina e tutta una serie di principi attivi vitali per l'integrità e il funzionamento dell'apparato vascolare. Secondo questa nuova intuizione il SNC (sistema nervoso centrale), partecipa al controllo della regolazione degli scambi emotissutali a livello del microcircolo capillare, attraverso l'increzione di MLT e Serotonina. Quest'ultima verrebbe concentrata attivamente nei megacariociti e nelle piastrine, dove a livello dei granuli dei "corpi densi", da sistemi enzimatici, attraverso reazioni di acetilazione e metilazione, verrebbe trasformata in MLT. La piastrina pertanto, può essere considerata come una sorta di "appendice mobile", del sistema nervoso centrale, in grado di veicolare e cedere ai tessuti, attraverso il microcircolo e gli scambi emotissutali elementi fondamentali di regolazione e trofismo. In questo senso la liberazione dei principi attivi dai granuli dei corpi densi piastrinici è assimilabile alla

liberazione da parte delle terminazioni sinaptiche degli assoni neuronali di mediatori adrenergici, dopaminergici, serotoninergici ecc. La MLT, secondo la scoperta del Prof. Di Bella, svolge un ruolo essenziale nel regolare qualitativamente e quantitativamente la piastrinopoiesi, attivando la produzione di piastrine nel midollo osseo, attraverso la regolazione dei processi maturativi dei megacariociti e la stabilizzazione delle membrane piastriniche. Secondo questa nuova visione va completamente rivista la fisiopatologia delle piastrine alla luce del ruolo centrale di antiaggregante fisiologico della MLT. Infatti le piastrine, ricche di MLT, in presenza di quantità normali, fisiologiche di MLT nel sangue, sono perfettamente stabili, conservano forma e struttura inalterate e non tendono ad aderire e ad aggregarsi, né a fissarsi all'endotelio e alla parete vascolare. Anche questa intuizione del Prof. Di Bella è stata confermata dopo anni dalla letteratura scientifica, infatti Kornblihtt e AA. hanno studiato gli effetti dell'aggregazione piastrinica indotta da collagene, ac. arachidonico, adrenalina, confermando il potente effetto inibitorio della MLT sull'aggregazione piastrinica, e ipotizzando che l'azione della MLT si espliciti ad uno stadio precedente a quello della Ciclossigenasi, a ulteriore conferma del concetto del Prof. Di Bella della MLT come stabilizzatore di membrana. Se la concentrazione ematica di MLT tende a decrescere, viene reintegrata dalle piastrine, che cedendola si attivano modificando la loro forma e struttura contestualmente alla emissione di MLT dai corpi densi. In questa fase le piastrine tendono ad aderire all'endotelio, al cui trofismo concorrono cedendo principi attivi. Perciò gli aggregati piastrinici a livello dei tessuti liberano il loro contenuto da quei corpi densi che contengono le più elevate concentrazioni di MLT, sempre naturalmente aggregata, associata all'Adenosina cui è collegata dal labile legame di idrogeno. Nella Sua Conferenza nazionale di Roma del luglio 1997 il Prof. Di Bella per spiegare l'azione sull'endotelio del sistema-MLT-Piastrina ha ricordato il caso di un bimbo ricoverato all'ospedale Gustav Roussi di Parigi per una grave forma di leucemia linfoblastica. I medici dell'ospedale accettarono il suo consiglio di somministrare una soluzione etanolica di MLT. Si verificò un rapido cambiamento del colore del viso, che dal pallore intenso, in breve tempo, divenne roseo. Escludendo che nel giro di qualche ora vi fosse stata una tale attivazione dell'eritropoiesi da incrementare significativamente il tasso di globuli rossi, l'effetto non poteva che essere dato da una dilatazione dei capillari, da una variazione della permeabilità del loro endotelio e dello spessore della parete endotelio-vasale. Su queste strutture, la MLT interviene in maniera decisa, non solo a livello delle cellule endoteliali, ma degli strati su cui sono sottese. L'endotelio pertanto non ha solo la funzione fisica di contenitore e via di diffusione del sangue, ma anche squisitamente endocrina. I principi elaborati dall'endotelio sono stati isolati e sintetizzati. Tra essi l'E. D. C. F. (Endotelio Derivato di Contrazione Fattore), quindi esiste un fattore di contrazione derivato dall'endotelio con funzione di vasocostrizione, cioè diminuzione del calibro e della permeabilità endoteliale. Esso è

antagonizzato dall'E. D. R. F. (Endotelio Derivato di Rilasciamento Fattore). L'equilibrio di questi fattori interviene sulla fisiologia e la funzionalità dell'apparato circolatorio. Perciò a seconda delle situazioni, si può avere un processo rispettivamente di contrazione e rilasciamento del capillare, per cui la sua permeabilità, trasparenza, e di riflesso il colorito possono conseguentemente variare. Considerando il numero di capillari sull'unità di superficie di pelle, si spiega la variazione di colorito in base alla prevalenza di liberazione di EDCF oppure EDRF. L'elemento chiave di questa regolazione è la MLT, infatti questi fattori sono liberati o meno, in base alla quantità di MLT che si trova nel sangue, nel momento stesso in cui esso passa su quel tratto di capillare. Quando la piastrina libera il suo composto MLT-Adenosina, a seconda della quantità liberata si può avere una maggiore o minore quantità di EDCF oppure di EDRF da parte dell'endotelio. Attraverso questi meccanismi la MLT interviene anche sullo spessore della parete del capillare e sull'entità dello scambio emotissutale che esige un certo grado di permeabilità sia endoteliale che della membrana sottostante che lo integra e sostiene, in cui elementi di muscolatura liscia, le Leiomiocellule rappresentano gli elementi contrattili o di rilasciamento sensibili a EDCF o EDRF. Attraverso questi meccanismi la MLT interviene attivamente come fattore modulante la permeabilità capillare, l'endotelio e le sue strutture contrattili o Leiomiocellule, e pertanto sull'entità degli scambi emotissutali che significano trofismo, vita, capacità, attitudine, entità funzionale dei tessuti che sono irrorati da quel sistema capillare. Nello stesso momento in cui si blocca l'aggregazione piastrinica con farmaci antiaggreganti, si blocca la liberazione piastrinica dei complessi adenosil-melatoninici, con i danni conseguenti e un decadimento del trofismo e dell'efficienza dell'endotelio stesso primo beneficiario dei fattori liberati dalle piastrine. Le piastrine hanno una vita media relativamente breve, dell'ordine di 12 giorni circa, dopo di che dissolvendosi liberano MLT, il cui metabolismo ed eliminazione prevedono questa successione: viene ossidata in 6 con aumento della solubilità per la presenza di un altro gruppo polare che si può ancorare all'acqua e pertanto attraversa facilmente il filtro renale e viene eliminata con le urine, ma anche attraverso la saliva. Esiste un'altra via catabolica della MLT attraverso il parenchima epatico dove viene prima fosforilata ed eliminata sotto forma di 6 Solfatoximelatonina o Tiomelatonina. Questi cataboliti melatoninici non agiscono da semplici prodotti di rifiuto, ma come evidenziato da alcuni ricercatori tra cui la Leone, al Congresso di Amsterdam del 1978, non agiscono da semplici prodotti parassitari, privi di funzione, ma svolgono un'attiva azione disinfettante a livello dell'apparato genitourinario, al punto che in cistiti ricorrenti che non hanno una causa a livello dell'apparato digerente, si può ipotizzare un'alterazione del metabolismo della MLT.

Meccanismi d'azione della melatonina nel trattamento dei tumori secondo il Prof. L. Di Bella.¹

Fu per caso e non in seguito ad un programma di lavoro che rivolgemmo i nostri studi dalla fisiologia della fame e della sete allo studio del trattamento dei tumori liquidi e solidi. Dal 1980 quando fui onorato dalla visita del prof. Reiter all'Istituto di fisiologia umana dell'università di Modena, mi sono sempre occupato della biologia del cancro, e di circa 10,000 pazienti, direttamente o indirettamente. I risultati che avevo brevemente presentato e discusso con il prof. Reiter furono giustamente giudicati: “carenti di dettagli”.

“Gli studi clinici nei quali i pazienti erano trattati con *indole*” non erano supportati da dati clinici e di laboratorio. La ragione di questa mancanza deve essere attribuita alla mancanza di mezzi e alla riservatezza di questa ricerca a causa dei suoi pericoli, reali o potenziali. D'altra parte lo scopo della mia ricerca era stabilire se la melatonina (MLT) potesse avere un ruolo, più che indagare sui suoi meccanismi d'azione. Secondo Wald (*Ciba Foundation Symposium 113*, Retinoidi, differenziazione e malattie, p.269) “molte persone pensano che nella pratica clinica prima di testare qualcosa sia necessario capirne prima il funzionamento. Questa è un'idea sbagliata. In medicina l'efficacia di molti degli agenti più importanti fu in realtà scoperta nella pratica clinica molto prima che i loro meccanismi d'azione fossero compresi.”

Seguendo questa linea di pensiero, i tentativi di controllare il progresso dei tumori negli esseri umani furono limitati a principi già testati che combinassero la mancanza di tossicità con la maggiore attività antiproliferativa. Queste sperimentazioni portarono alla conclusione, già in parte adombrata nei principi generali della chemioterapia, che una singola sostanza può essere integrata nel tempo e la sua azione intensificata mediante il trattamento simultaneo con altre sostanze; e che sebbene la MLT non curi di per sé alcun tumore, senza la MLT è difficile o impossibile trattare o curare qualunque manifestazione bio-clinica di un tumore. Raggiunta questa conclusione fu necessario indagare le cause, le cui radici non potevano che trovarsi nella fisiologia stessa.

Si è concordi in maniera unanime che la MLT interviene nei processi metabolici in qualche modo legati al normale ritmo circadiano di luce/buio, giorno /notte, sonno/risveglio, che in molti soggetti è coinvolto nell'insorgere della Sindrome Depressiva Stagionale e in diversi disordini affettivi e di comportamento, che in alcune specie più che in altre ha ripercussioni accertate sulla riproduzione. Ma queste azioni ben note ed ampiamente studiate non servono a chiarire l'effetto della MLT nella terapia del cancro.

¹ L. Di Bella, Relazione, Laboratorio privato di fisiologia, via Mariannini 45, Modena, Italia, 1996.

In un periodo di più di 15 anni, su più di 10,000 pazienti seguiti per diversi periodi di tempo, con varie dosi, durata del trattamento, momento di somministrazione e natura delle sostanze associate, e in pratica su ogni tipo di tumore liquido o solido, siamo stati in grado di dimostrare l'utilità o l'indispensabilità della MLT.

Il meccanismo d'azione è multiplo, uno non esclude l'altro. Comunque, in certi tipi di tumore una modalità di azione predomina sulle altre. La comprensione di questi aspetti sottolinea le regole per il trattamento con la MLT (e con altre sostanze).

I punti che meglio caratterizzano e spiegano l'azione della melatonina sono i seguenti:

1. azione diretta sulla trombocitopoiesi e ripercussione indiretta sull'emopoiesi nel complesso;
2. interferenza con gli endoteli, con la produzione di EDRF e EDCF, metabolismo di proteinolipasi, scambi con la membrana basale;
3. neurotrasmissione cerebrale adrenergica e serotonergica e comportamento simile a APUD delle piastrine.

1. Influenza della MLT sull'emopoiesi

L'influenza della malattia carcinomatosa, in tutti i suoi stadi e manifestazioni, sul cibo e sull'assunzione di liquidi può influenzare le molteplici espressioni dell'emopoiesi – e non solo la produzione di piastrine. L'anoressia, fino a cachessia negli stadi terminali; disturbi della nutrizione, della digestione e dell'assorbimento dei cibi; diete speciali, non bilanciate e incomplete possono causare tra le altre cose, la riduzione di disponibilità di amminoacidi essenziali, come il Triptofano, e da ciò riduzione di serotonina, MLT e derivati del *benzopyrrol*.

La riduzione o mancanza di serotonina, NAT o HIOMT e sostrati a livello delle terminazioni serotonergiche del midollo osseo provocano non solo una minor produzione di piastrine ma anche una malformazione delle piastrine (e da ciò alterazioni nelle rispettive funzioni) e una liberazione di piastrine ridotta, la comparsa di un midollo ricco di sostanza reticolare e di megacariociti, anche in processo di maturazione, ma con capacità eritreo- e leucopoietica ridotta. Anemia, leucopenia e trombocitopenia spesso hanno questa patogenesi in un gran numero di pazienti terminali col cancro. I fasci di fibre nervose che entrano nel midollo osseo e si muovono lungo i rami dell'arteria nutritiva con fibre prive di guaina mielinica, riforniscono i muscoli lisci di arteriole e di cellule parenchimali (Miller e Kasahara, 1963). Alcune fibre non mielinizzate terminano in stretto contatto con le cellule endoteliali dei sinusoidi, alcune terminano tra le cellule emopoietiche. La maggior parte delle fibre nervose vicine alle cellule parenchimali sono colinergiche e innervano anche le cellule colinesterasi-positive che sono presenti intorno ai megacariociti. Le fibre adrenergiche

inoltre mediano le sostanze chimiche alle estremità dei nervi (Miller e McKuskey). Le fibre adrenergiche e noradrenergiche, quelle colinergiche e serotonergiche mancano di regioni di contatto specializzate; esse rilasciano mediatori a lunga distanza come se esistesse una forma simile all'ormone nelle varicosità assoniche serotonergiche.

La serotonina è concentrata nei megacariociti, poi nelle piastrine insieme a meccanismi in parte Na-dipendenti, ed è trasformata in melatonina mediante mezzi di NAT e HIOMT, anch'essi concentrati nelle piastrine, nei corpi densi (Di Bella e Rossi; Launay, Barré, Costa e DaPrada). Il sistema serotonergico innerva con le sue fibre ogni area del sistema nervoso. Il nucleo serotonergico più importante nei topi è il nucleo rafe, che riceve impulsi importanti dall'abenula laterale *GABA-ergic*. La stimolazione dell'abenula produce un aumento significativo del conteggio di piastrine del sangue nelle 72 ore (Di Bella e Rossi). In conclusione, il sistema cerebrale della serotonina condiziona la produzione e la qualità delle piastrine nel midollo osseo, che a sua volta condiziona e regola diversi meccanismi di scambio del tessuto sanguigno mediante gli endoteli così come il ruolo neurotrasmettitore e trofico generale del 5HT nel cervello.

La somministrazione di 5HT (presumendo che i percorsi metabolici della sintesi biologica della MLT siano funzionanti) o della MLT nei pazienti con cancro può riportare alla normalità funzioni alterate degli scambi di tessuto sanguigno e l'importante funzione del sistema della serotonina del cervello. Il paziente con cancro che riceve dosi generose e continue di MLT presenta un emocromo tendenzialmente normale, non solo per il conteggio delle piastrine, che è spesso al di sopra dei valori normali, ma anche per il conteggio dei globuli bianchi e quadro protidemico normale.

La funzione trofica della MLT sul midollo osseo si manifesta non solo nelle piastrine e nei globuli bianchi, ma anche nei globuli rossi. I risultati favorevoli sui talassemici già pubblicati nel 1973 sono ora dettagliati su larga scala: dopo quattro settimane, un talassemico trattato con 8-10 mg/giorno di MLT presenta un tasso di Hb in media 2gr % maggiore di quanto sarebbe senza MLT.

Alla luce di questi effetti, riscontrati anche in soggetti normali, la MLT non può essere considerata una sostanza pericolosa, e può perciò essere applicata in qualsiasi malattia come direttamente utile, talvolta indispensabile e valida in tutti i casi di emergenza come i linfomi, mielomi e leucemie maligne, durante chemioterapia e radioterapia.

2. Influenza della MLT sugli scambi del tessuto sanguigno

Il numero e la qualità delle piastrine sono essenziali per l'integrità della circolazione (Oates J. A., Hawiger J., Ross Russel). I pazienti con cancro possono presentare piastrine con difetti alla membrana, come nella trombostenia e nella sindrome di Bernard-Soulier; piastrine come nella

pseudo-malattia di Eillebrand; piastrine con deficit di corpi densi come nella sindrome di Hermansky-Pudlok o nella sindrome di Wiskott-Aldrich e nella sindrome Chediak-Higashi; piastrine con mancanza di granuli-alfa (le piastrine grigie); piastrine con anomalia di May-Heggelin; o quelle con deficit di tromboxano o cicloossigenasi. Il cancro sembra avanzare più rapidamente e con maggiore, inspiegabile malignità quando uno di questi disordini è presente. Il tipico colore cachettico della pelle del viso, a volte così manifesto che da solo induce dubbi sulla diagnosi, ritorna normale già dopo pochi giorni di trattamento con MLT. Ciò accade in particolare nel caso di leucemici. Il fenomeno dipende solo in parte dall'aumento di sintesi dell' Hb come riscontrato nei talassemici (che porta ad una considerevole riduzione della quantità e frequenza di trasfusioni), ma dipende inoltre da una diminuzione della degradazione dell'Hb. In un soggetto normale 10^{12} piastrine contattano 3×10^9 capillari in circa $1,000\text{m}^2$, coperti da $7 \cdot 10^{11}$ cellule endoteliali. Nei brevi tratti capillari, dove il flusso tende a seguire un percorso laminare, le piastrine che aderiscono alla parete sono quasi stazionarie. Quando la densità del sangue diminuisce come nelle disprotidemie, e la viscosità del sangue raggiunge poche centipoise, quando il calibro di un vaso diminuisce a causa della compressione da parte dei linfonodi o delle vicine masse tumorali, il flusso può diventare turbolento e il numero di Reynolds può superare il valore di 1.000. In queste condizioni, la piastrina è deformata, si frammenta e rilascia le glicoproteine, gli *eicosanoids*, i recettori e gli enzimi della parete, le proteine alfa-granuli come il Fattore Piastrinico IV, le proteine simili alla tromboglobuline, PGDF, la *thrombospondin*, il deposito e i nucleotidi metabolici, l'adrenalina. La serotonina e la MLT, *Cal-Modulin*, il fibrinogeno e il Fattore Willebrand. La norepinefrina e la 5-HT sono attivamente assorbite e degradate enzimaticamente; possono essere ossidate mediante ossidasi monoamina (MAO) o metilate in presenza di catecol-O metiltransferasi (COMT). In presenza di NAT e HIOMT, la serotonina può produrre MLT ma diversi dei suoi metaboliti possono essere piuttosto attivi (Leone A.M. (75), Similan R.E., Hill B.T., Wheland R.D.H. e Shellard S.A.: *The pineal gland cancer*, p. 273, Tuebingen). La MLT si è dimostrata fra i più attivi agenti antiaggreganti; anzi si può considerare il più fisiologico anti-aggregatore piastrinico. Questa azione dipende dall'elevato contenuto di Adenosinfosfatasi negli organuli di deposito delle piastrine e dalla presenza di adenosina nel citosol. La prima fase dell'aggregazione piastrinica è nettamente inibita dalla MLT (inibizione della "shape change") e l'entità e la durata dell'inibizione sono proporzionali alla concentrazione di MLT (Di Bella e Rossi).

Quest'azione rappresenta una delle azioni fondamentali del meccanismo d'azione della MLT sugli scambi emo-tissutali nei tessuti normali e in quelli neoplastici. Il legame della MLT con l'adenofosfatasi è già stato studiato da Tranzer J.P., Da Prada M., e Pletscher (1967-70) e da Di Bella e Rossi (1976). Si tratta di un legame debole (-3 kcal/mol), relativamente aspecifico,

considerato da Jeffrey GA e Saenger W (*Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer Verlag, Berlin 1991, p.569) di primaria importanza per la vita, a tal punto che la vita senza il legame dell'idrogeno sarebbe impossibile. Soprattutto per la sua rapidità (-10^9 s^{-1}).

Le cellule endoteliali normali non permettono la deposizione delle piastrine sulla superficie capillare in condizioni fisiologiche. Al contrario, i globuli rossi possono aderire al lato luminale, in particolare in condizioni emodinamiche anormali. Le piastrine possono estroflettere pseudopodi verso i globuli rossi vicini. Fattori diversi possono comunque contribuire alla disintegrazione progressiva delle piastrine e al rilascio del loro contenuto. Mentre la distruzione procede, le piastrine si rimpiccioliscono fino a scomparire, nel normale processo di turn-over piastrinico.

In questo processo squisitamente fisiologico, la MLT gioca un ruolo importante nel preservare l'integrità delle piastrine, aumentando la loro durata, regolando la cessione dei loro componenti all'endotelio sottostante e assicurando e dirigendo la loro funzione. L'anormale deposizione di piastrine in seguito alla loro attivazione, la riduzione di concentrazione di MLT o lesioni endoteliali, possono ridurre progressivamente il conteggio delle piastrine nel sangue. Le molecole cationiche dei granuli delle piastrine inducono la proliferazione dei muscoli lisci delle pareti dei vasi e la sintesi delle proteine; il PGDF può indurre migrazione delle cellule dei muscoli lisci dalla struttura media a quella intima e iniziare le fasi preliminari di aterogenesi, formazione dei trombi e linfedema.

3. Influenza della MLT sulle funzioni dei nervi nel cancro.

L'origine biochimica della MLT dalla 5-TH, la localizzazione di neuroni e terminazioni contenenti 5-TH da parte di Dahlstrom A e Fuxe K. (1964-65) con la tecnica istochimica della fluorescenza di Falck-Hillarp, la dimostrazione della raccolta di queste cellule prevalentemente sul piano sagittale, con scariche tipicamente lente e regolari (Aghajanian GF, foote Wee Sheard MH, 1968) formano le basi per spiegare molte delle funzioni della MLT come causa ed elemento etiopatogenico dei tumori. Inoltre, secondo Brodie BB e Shore PA (1957), il 5-HT e la norepinefrina possono agire come sistemi neurochimici opposti, simili all'epinefrina e all'acetilcolina nel sistema nervoso autonomo periferico. Ma i tessuti periferici, derivati dalle cellule APUD, così come i tumori delle cellule APUD, utilizzano le stesse molecole neurotrasmettitorie del cervello.

Le piastrine possono essere considerate elementi estremamente adatti, onnipresenti, multifattoriali, itineranti e mobili di un sistema APUD plastico e ubiquitario, con il suo contenuto di 5-TH e norepinefrina, acetilcolina ed epinefrina, di MLT, NAT e HIOMT, di deposito e derivati metabolici dell'adenosina (AMP, ADP, ATP). Le piastrine talvolta si comportano come un neurone melatonergico e dopaminergico, serotonergico e adrenergico, secondo le diverse condizioni locali e

la natura ergica dei nuclei. Le piastrine possono assorbire e immagazzinare 5-TH; possono anche sintetizzare la MLT poiché anch'esse sono fornite di 5-TH-decarbossilasi. Brodie BB (1958), Udenfriend S e Wessbac H. (1958) affermavano che il tasso di turn-over nel cervello di 5-HT è maggiore rispetto a quello nell'intestino.

Esiste una gran quantità di dati farmacologici (legami con l'imipramina; comportamento verso gli antidepressivi ciclici, reserpina, tetrabenazina, N-etilmaleinimide) che indicano un'ampia affinità funzionale e complementarità di azione tra le piastrine e i neuroni del sistema serotonergico. Questa funzione delle piastrine, che rilasciano i loro depositi di 5-HT ed espellono materiale dai loro granuli quando vengono spinte dagli stimoli adeguati (azione di rilascio delle piastrine) è stata considerata piuttosto simile al rilascio di neurotrasmettitori da parte dei neuroni centrali. La reazione di rilascio delle piastrine e il comportamento di secrezione insieme servono come modello per il rilascio dei neuroni centrali serotonergici e adrenergici.

I corpi serotonergici delle cellule sono ristretti in gruppi nel tronco cerebrale; costituiscono circa 1/1.000.000 di tutti i neuroni del sistema nervoso centrale, ma la loro influenza è ben oltre questo numero, a causa dell'enorme numero di varicosità. Molte cellule non 5-HT esistono nei nuclei (nuclei rafe) perché molti neuropeptidi si trovano negli stessi corpi cellulari, encefalina, TRH, Sostanza P, neuropeptide Y. Grossi dendriti da cellule 5-HT raggiungono lo strato ependima, tanociti ventricolari e molte terminazioni in stretta prossimità delle cellule endoteliali che contattano anche le piastrine.

I nuclei serotonergici rafe ricevono importanti informazioni dalla parte anteriore del cervello limbico e dall'abenula laterale (Aghajanian G.K. E Wang RY, Brain Res., 1977, 122, 229-292; Sakai K, Salvart D., Touret M. & Jouvett M, Ibidem, 1977, 137, 11-35), la cui stimolazione elettronica produce un significativo aumento del conteggio delle piastrine (Di Bella e Rossi). Interneuroni GABA sembrano fornire un efficiente meccanismo inibitorio sui nuclei serotonergici del rafe. In alcuni punti del sistema nervoso centrale dei mammiferi, dove non si trova alcuna specializzazione sinaptica, la 5-TH delle piastrine può essere rilasciata e diffusa ad una distanza di diverse centinaia di micron. I neuroni serotonergici nella dorsale del rafe mostrano dei cambiamenti tonici in attività nel momento di transizione dal sonno alla veglia e viceversa. Altri specifici gruppi di neuroni colinergici (nella parte anteriore del cervello basale e nel tegmento pontino dorsale), di neuroni noradrenergici (nel locus ceruleus), di neuroni dopaminergici (nella sostanza nera e nell'area tegmentaria ventrale), di neuroni istaminergici (nell'ipotalamo tubero-mammillare) agiscono in maniera simile.

Una risposta neuronale diversa da quella fisiologica nota e studiata finora (*neuronal firing*) implica l'attivazione del secondo messaggero, la formazione di proteinkinasi, il controllo dei

prodotti di fosforilazione da parte delle fosfatasi. Queste reazioni si estendono per decine di millisecondi fino anche a minuti e possono portare all'attivazione di geni. L'espressione di geni specifici può essere attivata o disattivata nel giro di minuti od ore attraverso la trascrizione di molecole capaci di legarsi a segmenti specifici regolatori del DNA.

Il ciclo sonno /veglia per i suoi rapporti di durata può modulare questo tipo di reazioni cellulari, come si è potuto dimostrare attraverso le conseguenze dell'abolizione totale del sonno, ovvero attraverso l'eliminazione soltanto del sonno REM, I primi geni coinvolti sono l' "immediate early gene" (c-fos) e "NGFI-A", i quali esprimono fattori di trascrizione che possono essere evocati anche da afferente extracellulari. Il relativo mRNA e le proteine di c-fos a NGFI-A sono modulati dallo stato di veglia o di sonno come forse anche da afferente ambientali od autogene. La serotonina può promuovere l'espressione delle proteina Fos nella corteccia cerebrale di ratto (Lesile R.A. e Call, *Neuroscience*, 1993, 53, 457), laddove la distruzione di nuclei serotonergici ovvero il trattamento con antiserotoninici impedisce detti effetti (Bhat R. V. e Baraban J.M., *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1993, 267,496).

Siamo agli inizi di un nuovo capitolo della fisiologia del sistema nervoso centrale, che prospetta l'evenienza di un dato evento come la risultante fattoriale di diverse serie di fattori. Fra questi non la MLT nella sua staticità molecolare, bensì nel suo dinamismo chimico esercita un ruolo, che, limitato prevalentemente al sistema serotonergico, può raggiungere estrema complessità e fine adattamento attraverso il sistema APUD piastrinico, e interferire nell'etiopatogenesi e nell'evoluzione dei tumori.

Bibliografia

1. Altschule M.D., *Frontiers of Pineal Physiology*, The Mit Press, MA, 1975, pag. 288.
2. Anonymous, *Complementary treatments highlighted at recent meeting* [news], *Source Oncology* (Huntington). 13(2):166, 1999 Feb.
3. Araghi-Niknam M, Lane L, Watson RR, *Physical inactivity of murine retrovirus infected C57BL/mice is prevented by melatonin and dehydroepiandrosterone*, *proceedings of the Society for experimental Biology & Medicine*. 219(2):144-8, 1998 Nov.
4. Arendt J., *Mammalian pineal rhythms*. *Pineal Research Reviews*, 1985, 3, 161-213.
5. Arendt J., *Melatonin and the Mammalian Pineal Gland*, Chapman & Hall, London, 1995, pag. 214.
6. Bargmann W, 1943, *Die Epiphysis Cerebri*, in *Handbook Mikrosk, Anatomy Mensch.*, Bd. VI, 4, Hrsg. W.V. Moellendorf, Springer, Berlin, pp. 309-502.
7. Barni S, et al., *A randomized study of low-dose subcutaneous interleukin-2 plus melatonin versus supportive care alone in metastatic colorectal cancer patients progressing under 5-fluorouracil and folates*, *Oncology*. 52(3):243-5, 1995 May.
8. Bartsch C, Bartsch H. [*Significance of melatonin in malignant diseases*], *Wiener Klinische Wochenschrift*. 109(18):722-9, 1997 Oct 3.

9. Beck Friis J., *Melatonin in depressive disorders*, Koenigl. Carolinska Medico-Chirurgiska Institutet, 1983, pag. 175.
10. Benot S., Gobema R., Reiter R.J., Garcia.Maurino S., Osuna C., Guerrero J.M., *Physiological levels of melatonin contribute to the antioxidant capacity of human serum*. J Pineal Res 1999 Aug; 27 8!):59-64.
11. Bhat R.V., Tausk F.A., Baraban J.M., Mains R.E., Eipper B.A., *Rapid increases in peptide processing enzyme expression in hippocampal neurons*. J. Neurochem., 1993 Oct; 61(4):1315-15.
12. Binkley S., 1988, *The Pineal: Endocrine and Nonendocrine Function*, Prentice Hall, Englewood Cliff, New Jersey, USA.
13. Birau N. & W. Schloot, *Melatonin*, Pergamon Press; 1980, pag. 410.
14. Blask DE, Sauer L.A., Dauchy R.T., Holowachuk, E.W., Ruhoff M.S., KopfF H.S., *Melatonin inhibition of cancer growth in vivo involves suppression of tumor fatty acid metabolism via melatonin receptor-mediated signal transduction events*.
15. Blask DE, Sauer L.A., Dauchy R.T., Holowachuk E.W., Ruhoff M.S., *New action of melatonin on tumor metabolism and growth*, Biological Signals & Receptor. 8(1-2):49-55, 1999 Jan-Apr.
16. Blask DE, Wilson ST, Zalatan F, *Physiological melatonin inhibition of human breast cancer cell growth in vitro: evidence for glutathione-mediated pathway*, Cancer Research. 57(10):1909-14, 1997 May 15.
17. Blask. D.E, Hill S.M., Pellettier D.B., 1988, "Oncostatic signaling by the pineal gland and melatonin in the control of breast cancer" in *The Pineal Gland and Cancer*, Gupta D., Attanasio A., Reiter. R.G.(eds.), Brain Research Promotion, Tubingen, pp. 1995.
18. Borijigin J., Li X., Snyder S.H., *The pineal gland and melatonin: molecular and pharmacologic regulation*. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1999, 39:53-65.
19. Brydon L., Petit L., de Coppet P., Barret P., Morgan P.J., Strosberg A.D., Jockers R, *Polymorphism and signalling of melatonin receptors*. Reprod Nutr Dev 1999 May-Jun; 39 (3):315-24.
20. Bubenik GA, Blask DE, Brown GM, Maestroni GJ, Pang SF, Reiter RJ, Viswanthan M, Zisapel N, *Prospects of the clinical utilization of melatonin*, Biological Signals & Receptor. 7(4):195-219, 1998 Jul-Aug.
21. Bubis M., Zisapel N., *A role for NAD⁺ and cADP-ribose in melatonin signal transduction*, Mol Cell Endocrinol, 1998 Feb; 137 (1):59-67.
22. Campbell F.R., (1972), *Ultrastructural studies of transmural migration of blood cells in the bone marrow of rats, mice and guinea pigs*. Am. J. Anat., 135, 521.
23. Ciba Foundation Symposium: *Photoperiodism; Melatonin and the pineal*, Pitman, London, 1935, pag.323.
24. Cini G, Coronello M, Mini E, Neri B, *Melatonin's growth-inhibitory effect on hepatoma AH 130 in the rat*, Cancer Letters. 125(1-2):51-9, 1998 Mar 13.
25. Collin J. P, Arendt J. Gern W.A., 1988, *Le "Troisieme Oeil"*, La Recherche, 203, 1154-65.
26. Collin P., "Differentiation and regression of the cells of the sensory line in the epiphysis Cerebri" in *The Pineal Gland*, G.E.W. Wolstenhome and J. Knight (eds.), Churchill Livingstone, Edimburg, 1972, pp. 79-125.
27. Coon S.L., Mazuruk K., Bemard M., Roseboom P.H., Klein D.C., Rodriguez J.R., *The human serotonin N-acetyl-transferase (EC 2.3.1.87) gene (AANAT): structure, chromosomal localization, and tissue expression*. Genomics 1996 May 15; 34 (1):76-84.
28. Danforth D.N. Jr, Tamarkin L., Lippman M.E., *Melatonin increases estrogen receptor binding activity of human breast cancer cells*. Nature 1983 Sep. 22-28; 305 (5932):323-5.
29. David G.F.X., Herbert J, 1973, *Experimental evidence for a synaptic connection between habenula and pineal ganglion in the ferret*. Brain Research, 64, 327-43.

30. De Bruyn P.P.H., Michelsen S., Thomas T.B., (1971), *Migration of blood cells of the bone marrow through the sinusoidal wall*. J. Morphol., 133, 417.
31. Di A., Xu R., Peng S., Shan H., Qian Z., *Melatonin inhibits TRH-stimulation prolactin gene expression of anterior pituitary cells in newborn rat in vitro*. Chung Kuo I Hsueh Ko Hsueh Yuan Hsueh Pao 1997 Dec; 19 (6):430-5.
32. Di pace D.M., Webber. R.H., (1975), *Electrostimulation and morphologic study of the nerves of the bone marrow of the albino rat*. ACTH Anat., 93, 1.
33. Diaz Lopez B., Colmenero, Urquijo M.D., Marin Fernandez B., *The antioxidants capacity of melatonin: its defensive role against age-related diseases*. Med Clin (Barc) 1998 May 16; 110 (17):668-76,
34. Eck KM, Yuan L, Duffy L, Ram PT, Ayettey S, ChenI, Cohn CS, Reed JC, Hill SM, *A sequential treatment regimen with melatonin and all-trans retinoic acid induces apoptosis in MCF-7 tumor cells*, British Journal of Cancer. 77(12):2129-37, 1998 Jun.
35. Erlich S.S., Apuzzo L.L., *The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance*, J. Neurosurg. 1985 Sep; 63(3):321-41.
36. Esquifino A.I., Castrillon P., Garcia-Bonacho M., Vara E., Cardinali D.P., *Effect of melatonin treatment on 24-hour rhythms of serum ACTH, Growth hormone, prolactin, luteinizing hormone and insulin in rats injected with Freund's adjuvant*.
37. Finin V.S., Volotowskii J.D., Koney S.V., (1979), *Role of acetylcholinesterase in the transmembrane transfer of anions in erythrocytes*. Biofizika, 24, 96.
38. Foà P., Roizin L., (1936), *Sull'innervazione funzionale del midollo delle ossa*. Nota II. Arch. Se. Biol., 22, 595.
39. Foà P., Roizin L., 1936, *Sull'innervazione funzionale del midollo delle ossa*. Arch. Soc. Biol., 21, 113.
40. Foà. P., (1935), *Sull'innervazione funzionale del midollo delle ossa*, Arch. Se. Biol., 21, 113.
41. Fraschini F. & R.J. Reiter, *Role of melatonin and pineal peptides in neuroimmunomodulation*, Plenum Press, New York, 1991, pag. 329.
42. Fraschini F., Demartini G., Esposti D., Scaglione, *Melatonin involvement in immunity and cancer*. Biol Signals Recept 1998 Jan-Feb; 7 (1):61-72.
43. Galnon B., Bruera E., *A review of the drug treatment of cachexia associated with cancer*. Drugs 1998 May, 55 (5):675-88.
44. Garcia F.C., Van Dyke. D.C., (1961), *Responses of rats of various ages to erythropoietin*, Prot. Exp. Soc. Med, 106, 585.
45. Garcia-Patterson A, Puig-Domongo M., Webb S.M., *Thirty years of human pineal research: do we know its clinical relevance?* J Pineal Research 1996 Jan; 20 (I): 1-6.
46. Garcia-Perganeda A., Guerriero J.M., Rafii-El-Idrissi M., Paz Romero M., Pozo D., Calvo J.R. J Neuroimmunol 1999 Mar 1; 95 (1-2): 85-94.
47. Geoffriau M., Brun J., Chazot G., Claustrat B., *The physiology and pharmacology of melatonin in humans*. Homi Res 1998;49 (3-4): 136-41.
48. Ghielmini M, Pagani O, de Jong J, Pampallona S, Conti A, Maestroni G, Sessa C, Cavalli F, *Double-blind randomized study on the myeloprotective effect of melatonin in combination with carboplatin and etoposide in advanced lung cancer*, British Journal of Cancer. 80(7):1058-61, 1999 Jun.
49. Giordano G.F., Lichtman. M.A., (1973), *Marrow cell regress. The central interaction of barrier pore size and cell maturation*. J, Clin. Invest., 52, 1154.
50. Griffith D., Bjoro T., Gautvik K., Haug E., *Melatonin reduces the production and secretion of prolactin and growth hormone from rat pituitary cells in culture*, Acta Physiol. Scand. 1987| Sept; 13 (1):43-9.
51. Gros M, (1846), *Note sur le nerfs des os*. C.R. Acad. Sci., 23, 1100.
52. Gupta D. & J.R. Reiter, *The Pineal Gland during development*, Croon Helm, London, 1986, pag. 274.

53. Harker. L.A., Fink C, A., (1969), *Thromokinetics in man*, J. Clin. Invest., 48, 963.
54. Harland JD, Liburdy RP, *Environmental magnetic fields inhibits the antiproliferative action of tamoxifen and melatonin in a human breast cancer cell line*, Bioelectromagnetics. 18(8):555-62, 1997.
55. Hawinger J., 1995, *Mechanism involved in platelet vessel wall interaction*. Thromb. Haemost; 74(1):369-72.
56. Hodde K.C., 1979, *The vascularization of the rat pineal organ*, Progress in Brain Research, 52, 39-44.
57. Hu DN, Roberts JE, *Melatonin inhibits growth of cultured human uveal melanoma cells*, Melanoma Research. 7(1):27-31, 1997 Feb.
58. Hunselmann M., 1967, *Vergleichende histologische Untersuchungen uber das vorkommen von Gliafasern in der Epiphysis cerebri von Saugertieren*, Acta Anatomy (Basel), 66, 249, 78 (cited in Vollrath, 1981).
59. Jockers R., Petit L., Brydon L., de Coppet P., Strosberg A.D., *Structure and function of melatonin receptors*.
60. Kallikinos-Maniakis A., (1969), *Megacaryocytes and platelets in central venous and arterial blood*, Acta Haematol., 42, 330.
61. Kappers J.A., 1960, *Innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat*, Anatomy Record, 136, 220-1.
62. Kappers, J.A., 1965, *Survey of the innervation of the epiphysis cerebri and the accessory pineal organs of vertebrates*, Progress in Brain Research, 10, 87-153.
63. Karasek M, Pawlikowski M, *Antiproliferative effects of melatonin and CGP 52608*, Biological Signals & Receptors. 8(1-2):75-8, 1999 Jan-Apr.
64. Karasek M., 1983, *Ultrastructure of the mammalian pineal gland: its comparative and functional aspects*, Pineal Research Reviews, 1, 1-48.
65. Kaufman R.M., Airo R., Pollak S, Crosby W.H., (1965a), *Circulating megacaryocytes and platelet release in the lung*. Blood.26, 720.
66. Kerenyi N.A, Pandula E., Feuer G.M., *Oncostatic effects of the pineal gland*, Drug Metabol. Interact 1990; 8 (3-4):313-9.
67. Korf H. W., Kramm C., Grip W. J., 1991, *Further analysis of Photoreceptor-Specific Proteins in the rodent pineal organ and retina*, Advances in Pineal Research, Volume 5 (ed. § R.J. Reiter), John Libbey, London, pp. 115-22.
68. Korf H.W., Moller M., Gery I., et al., 1985, *Immuno-cytochemical demonstration of retinal S antigen in the pineal organ of four mammalian species*. Cell Tissue Research, 239, 81-5.
69. Kummer-Trost E., 1956, *Die Bildungen des Zwischenhirndaches der Agamidae, nebst Bemerkungen uber die Lagebeziehungen des Vorderhims*. Morfologisches Jahrbuch, 97, 143-92. (cited in Volirath, 1981).
70. Kuntz A., Richins. C.A., (1945). *Innervation of the bone marrow*. J. Comp. Neurol., 83, 213.
71. Kvetnoi J.M., Levin I.M., *Melatonin and tumor growth*,. Eksp Onkol 1986; (4):11-5.
72. Lapin V., Ebels L, *The role of the pineal gland in neuroendocrine control mechanism of neoplastic growth*, J. Neuronal Transm. 1981; 50(2-4):275-82.
73. Lemaitre B.J., Leunay J.M., Dreux C., Hartman L., Da Prada M., (1981), *Melatonin content, uptake and synthesis by blood platelets*. EPSG 2° Colloq. Giessen, 42.
74. Lemus-Wilson A., Kelly P.A., Blask D.E., *Melatonin blocks the stimulatory effects of prolactin on human breast cancer cell growth in culture*, 19995.
75. Leone A.M., Silman R.E., Hill B.T., Welan R.D.H., Shellard. S.A., *The pineal gland and cancer*, p. 273, Tuebingen.

76. Lissoni P, Barni S, Mandala M, Ardizzola A, Paolorossi F, Vaghi M, Longarini R, Malugani F, Tancini G, *Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumor patients with poor clinical status*. European Journal of Cancer. 35(12):1688-92, 1999 Nov.
77. Lissoni P, et al., *A randomized study with subcutaneous low-dose interleukin 2 alone vs. interleukin 2 plus pineal neurohormone melatonin in advanced solid neoplasms other than renal cancer and melanoma*, Br J Cancer. 69(1):196-199, 1994 Jan.
78. Lissoni P, et al., *Endocrine and immune effects of melatonin therapy in metastatic cancer patients*, Eur J Cancer Clin Oncol. 25(5):789-795, 1989 May.
79. Lissoni P, et al., *Immunotherapy with subcutaneous low-dose interleukin-2 and the pineal indole melatonin s a new effective therapy in advanced cancers of the digestive tract*, Br J Cancer. 67(6):1404-1407, 1993 Jun.
80. Lissoni P, Fumagalli L, Paolorossi F, Rovelli F, Roselli MG, *Anticancer neuroimmunomodulation by pineal hormones other than melatonin: preliminary phase II study of the pineal indole 5-methoxytryptophol in association with low-dose IL-2 and melatonin*, Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents. 11(3):119-22, 1997 Jul-Sep.
81. Lissoni P, Giani L, Zerbini S, Trabattoni P, Rovelli F, *Biotherapy with the pineal immunomodulating hormone melatonin versus melatonin plus aloe vera in untreatable advanced solid neoplasms*, Natural Immunity. 16(1):27-33, 1998.
82. Lissoni P, Paolorossi F, Ardizzola A, Barni S, Chilelli M, Mancuso M, Tancini G, Conti A, Maestroni GJ, *A randomized study of chemotherapy with cisplatin plus etoposide versus chemoendocrine therapy with cisplatin, etoposide and the pineal hormone melatonin as a first-line treatment of advanced non-small cell lung cancer patients in a poor clinical state*, Journal of Pineal Research. 23(1):15-9, 1997 Aug.
83. Lissoni P, Tancini G, Barni S, Paolorossi F, Ardizzola A, Conti A, Maestroni G, *Treatment of cancer chemotherapy-induced toxicity with the pineal hormone melatonin*, Supportive Care in Cancer. 5(2):126-9, 1997 Mar.
84. Lissoni P, Tancini G, Paolorossi F, Mandala M, Ardizzola A, Malugani F, Giani L, Barni S, *Chemoneuroendocrine therapy of metastatic breast cancer with persistent thrombocytopenia with weekly low-dose epirubicin plus melatonin: a phase II study*, Journal of Pineal Research. 26(3):169-73, 1999 Apr.
85. Lucarelli F., Porcellini. A., Carnevali C., (1968), *Fetal and neonatal erythropoiesis*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 149, 544.
86. Lukasyk A., Reiter R.J., 1975, *Histopathological evidence for the secretion of polypeptides by the pineal gland*, American Journal of Anatomy, 143, 451-64.
87. Lupowitz Z, Zisapel N, *Hormonal interactions in human prostate tumor LNCaP cells*, Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology. 68(1-2):83-8, 1999 Jan.
88. Maestroni G.I.M., Conti A., Pierpaoli W., 1989, *Melatonin, stress, and the immune system*. Pineal Res. Rev., 7, 203.
89. Maestroni G.L., Conti A., Pierpaoli W., *Pineal melatonin, its fundamental immunoregulatory role in aging and cancer*, Ann. NY Acad. Sci. 1988; 521:140-8.
90. Matsui DH, Machado-Santelli GM, *Alteration in F-actin distribution in cells treated with melatonin*, Journal of Pineal Research. 23(4):169-75, 1997 Nov.
91. Mediavilla MD, Cos S, Sanchez-Barcelo EJ, *Melatonin increases p53 and p21WAF1 expression in MCF-7 human breast cancer cells in vitro*, Life Sciences. 65(4):415-20, 1999.
92. Melen-mucha G, Wiczuk K, Pawlikowski M, *Somatostatin analogue octreotide and melatonin inhibit bromodeoxyuridine incorporation into cell nuclei and enhance apoptosis in the transplantable murine colon 28 cancer*, Anticancer Research. 18(5A):3615-9, 1998 Sep-Oct.

93. Mellins U.L., Gianutsos G., Eison A.S., *Characterization of melatonin-induced fos-like immunoreactivity in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus of the rat.*
94. Michelsen K., (1968), *Hemodynamics of the bone marrow circulation.* Acta Physiol. Scand., 73, 264.
95. Miles A. & Coll, *Melatonin*, Oxford Med. Publ., Oxford Univ. Press, 1988, pag. 288.
96. Miles A., Thomas. D.R., 1988, "Melatonin-A diagnostic marker in laboratory medicine?" in *Melatonin-Clinical Perspectives*, Miles A., Philbrick D.R.S., Thompson C. (eds.), Oxford University Press, Oxford, pp. 253.
97. Miller M.L., McCuskey R.S., (1973), *Innervation of bone marrow in the rabbit.* Scand. J. Haemat., 10, 17.
98. Miller M.L., McCuskey R.S., (1973), *Innervation of bone marrow in the rabbit.* Scand. J. Haemat., 10, 17.
99. Miller M.R., Kasanara M., (1963), *Observation on the innervation of human long bones.* Anat. Rec., 145, 13.
100. Moccheggiani E., Perissini L., Santarelli L., Tibaldi A., Zorzet S., Rapozzi V., Giacconi R., Giraldi T., *Melatonin administration in tumor-bearing mice (intact and pinealectomized) in relation to stress, zinc, thymulin and IL-2.* Int J Immunopharmacol 1999 Jan; 21 (1):27-46.
101. Moller M., Korf H.W., 1984, *The innervation of the mammalian pineal gland with special reference to central pinealopetal plications,* Pineal Research Reviews, 2, 41-86.
102. Moller M., Mikkelsen. J.D., Larsen P.G., 1991, *Advances in Pineal Research*, Volume 5 (eds J.Arendt and P. Pevet), John Libbey, London, pp. 13-32.
103. Moller M., Mollgard K., Kimble. J.E., 1975, *Presence of a pineal nerve in sheep and rabbit fetuses,* Cell and Tissue Research, 158, 451-9.
104. Moretti RM, Marelli MM, Maggi R, Dondi D, Motta M, Limonta P, *Antiproliferative action of melatonin on human prostate cancer LNCaP cells,* Oncology Reports. 7(2):347-51, 2000 Mar-Apr.
105. Neri B, et al., *Modulation of human lymphoblastoid interferon activity by melatonin in metastatic renal cell carcinoma. A phase II study,* Cancer. 73(12):3015-3019, 1994 Jun 15.
106. Norris W.T., Bonnell J.A., 1988, "People in 50Hz electric and magnetic fields: Studies in the United Kingdom", in *Electromagnetic Fields and Neurobehavioral Function*, O'Connor M.E., Lovely R.H., eds., Liss. A.R., New York., pp. 349.
107. Nowak J.Z., Zawilska J.B., *Melatonin and its physiological and therapeutic properties.* Pharm World Sci 1998 Feb; 20 (1): 18-27
108. O'brien P.J. & D.C. Klein, *Pineal and retinal relationships*, Acad. Press, 1986, pag. 442.
109. O'Callaghan FJ, Clarke AA, Hancock E, Hunt A, Osborne JP, *Use of melatonin to treat sleep disorders in tuberous sclerosis,* Developmental Medicine & Child Neurology. 41(2):123-6, 1999 Feb.
110. Okshe A., 1982, "Aspects of evolution of the pineal organ" in *The Pineal Gland and its EndocrinRole*, J. Axelrod, F. Fraschini and G. P. Velo(eds.), Plenum Press, New York.
111. Okshe A., Ueck M., Rudemberg C., 1971, *Comparative Ultrastructural Studies Of Sensory And Secretary Elements In Pineal Organs*, Memoirs of the Society for Endocrinology, 19, 7-25.
112. Olcese J., Reuss S., Vollrath L., 1985, *Evidence for the involvement of the visual system in mediating magnetic field effects on pineal melatonin synthesis in the rat.* Brain Res., 333, 382.
113. Ottolenghi D., 1902, *Sur les nerfs de la moelle des os.* Arch. It. Biol., 37, 73.
114. Panzer A, *Melatonin in osteosarcoma: an effective drug?*, Medical Hypotheses. 48(6):523-5, 1997 Jun.
115. Panzer A, Viljoen M, *The validity of melatonin as an oncostatic agent,* Journal of Pineal Research. 22(4):184-202, 1997 May.

116. Panzer A., *Depression or cancer: the choice between serotonin or melatonin*. Med Hypotheses 1998 May; 50(5):385-7.
117. Pederson N.T., (1978), *Occurrence of megacaryocytes in various vessels and their retention in the pulmonary capillaries in man*. Scand J. Haematol., "21, 369.
118. Pepping J., *Melatonin*, American Journal of Health-System Pharmacy. 56(24):2520-7, 1999 Dec 15.
119. Petrakis N.L., (1954), *Bone marrow pressure in leukemic and non leukemic patients*. J. Clin. Invest., 33, 27.
120. Petranka J., Baldwin W., Biermann J., Jayadev S., Barret J.C., Murphy E., *The oncostatic action of melatonin in an ovarian carcinoma cell line*. J Pineal Res 199 Apr; 26 (3); 129-36.
121. Pevet P., 1981, *Ultrastructure of the mammalian pinealocyte*, Pineal Gland, Volume 1, Anatomy and Biochemistry (ed. R.J. Reiter), CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, pp. 122-54.
122. Pfeffer M., Maronde E., Molina C.A, Korf H.W., Stehle J.H., *Inducible cyclic AMP early repressor protein in rat pinealocytes: a highly sensitive natural reporter for regulated gene transcription*.
123. Pollack M., *Cancer controversy [letter; comment]*, Nature. 329(6678):752, 1998 Apr 23.
124. Privat K., Ravault J.P., Chesneau D., Fevre-Montagne M., *Day/night variation of tryptophan hydroxylase and serotonin N-acetyltransferase mRNA levels in the ovine pineal gland and retina*.
125. Quay W.B., 1974, *Pineal Chemistry in Cellular and Physiological Mechanism*, Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, US.
126. Quay W.B., *Pineal Chemistry*, C. Thomas, Springfield, 1974, pag. 430.
127. Quay W.P., 1973, *Retrograde perfusion of the pineal region and the question of pineal vascular Routes to brain and choroid plexuses*, American Journal of Anatomy, 137,387-402.
128. Raikhlin, N.T.,Kvetnoi, I.M., *Dynamics of changes in enterochromaffin cells during tumor growth*, Vopr Onkol 1976; 22(1):53-9.
129. Ram P.T, Kiefer T., Siverman M., Song Y., Brown G.M., Hill S.M., *Estrogen receptor transactivation in MCF-7 breast cancer cells by melatonin and growth factors*. Mol Cell Endocrinol 1998 Jun 25; 141 (1-2):53-64.
130. Rato AG, Pedrero JG, Martinez MA, del Rio B, Lazo PS, Ramos S, *Melatonin blocks the activation of estrogen receptor for DNA binding*, FASEB Journal. 13(8):857-68, 1999 May.
131. Regelson W., Pierpaoli W., *Melatonin: a rediscovered antitumor hormone? Its relation to surface receptors; sex steroid metabolism, immunologic response, and chronobiologic factors in tumor growth and therapy*, Cancer Invest 1987; 5 (4):379-85.
132. Reiter R.J., 1988 b, "Pineal Gland, cellular proliferation and neoplastic growth: An historical account" in: *The Pineal Gland and Cancer*, Gupta D, Attanasio A., Reiter R.J. (eds.), Brain Research Promotion, Tubingen, pp.41.
133. Reiter R.J., *The pineal Gland*, CRC Press, Vol. 3, Boca Raton, 1982.
134. Reiter R.J., *The pineal Gland*, Raven Press, 1984, pag. 382.
135. Reiter, R. J., 1981, *The mammalian pineal gland: Structure and function*, American Journal of Anatomy, 162, 307-313.
136. Rhineland F.M., (1972), "Circulation in bone" in *The biochemistry and physiology of bone*, Vol.II, Academic Press, N.Y., 1.
137. Roberts JE, Wiechmann AF, Hu DN, *Melatonin receptors in human uveal melanocytes and melanoma cells*, Journal of Pineal Research. 28(3):165-71, 2000 Apr.
138. Ronco A.L., Halberg F., *The pineal gland and cancer*. Anticancer Research 1996 Jul-Aug; 16 (4A):2033-9.
139. Rossi F., (1932), *L'innervazione del midollo osseo*. Arch. It. Anat. Embriol., 29, 539.

140. Rossi F., 1932, *L'innervazione del midollo osseo*. Arch. It. Anat. Embryol.,29, 539.
141. Roth J.A., Kim B.G., Lin W.L., Cho M.I., *Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation*. J Biol Chem 1999 Jul 30; 274 (31):22041-7.
142. Scalera G., Di Bella L., Rossi M.T., Gualano L., *Effetti della Melatonina sulle piastrine in vitro. Aggregazione con ADP di piastrine pretrattate con melatonina (MLT). Sul ruolo fisiologico della Melatonina nella regolazione del tasso piastrinamico*. Dagli Atti del Congr. Soc. It. Di biologia Sperimentale, Società Italiana di Fisiologia, Società Italiana di Nutrizione Umana. L'Aquila, 27-29 sett. 1979.
143. Semm P., Schneider T., Vollrath L., 1980, *Effects of earth-strength magnetic field on electrical activity of pineal cells*. Nature, 22 8, 607.
144. Simonneaux V., Ouichou A., Craft C., Pevet. P., *Presynaptic and postsynaptic effects of neuropeptide Y in the rat pineal gland*, J. Neurochem 1994 Jun; 62 (6):2464-71.
145. Skwarlo-Sonta K., *Functional connections between the pineal gland and immune system*. Acta Neuobiol Ex (Warsz) 1996; 56 (1):341-57.
146. Slovinska-Klencka D., Lewinski A, *Role of melatonin in human physiology and pathology. II. Involvement of melatonin in pathogenesis of affective and chronobiological disorders. Melatonin and the aging process. Melatonin and neoplasms*, Postepy Hig Med Dosw 1993; 47 (4):267-76.
147. Solar P, [*Melatonin and its wide-spectrum effects: use of melatonin in the treatment of tumors*], Ceskoslovenska Fysiologie. 48(1):27-40, 1999 Feb.
148. Sudgden D., Weller J.L., Klem D.C., 1984, *Alfa-adrenergic potentiation of beta-adrenergic stimulation of rat pineal N-acetyl transferase: studies using citazoline and fluorine analog of norepinephrine*.
149. Tamarkin K., Baird C.J., Almeida,O.F.X., 1985, *Melatonin: a coordinating signal for mammalian reproduction*. Science, 227, 714-20, (Copyright by the AAAS).
150. Tamarkin L., Almeida O.F., Danforth D.N. Jr., *Melatonin and malignant disease*, Ciba Found. Symp. 1985, 117:284-99.
151. Tamarkin L., Danforth D, Lichter A., DeMoss E., Cohen M., Chabner B., Lippman M., *Decreased nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer*, Science, 1982 May 28; 216 (4549) :1003-5.
152. Tapp E., Huxley M., *The histological appearance of the human pineal gland from puberty to old age*. 1972, Journal of Pathology, 108 137-44.
153. Tapp, E., 1979, *The history and pathology of the human pineal gland*. Progress of Brain Research, 52, 481-500. Vollrath, I. 1981 The Pineal Organ. Springer-Verlag, Heidelberg.
154. Toitou Y., Fevre M, Bogdan A., et al., *Patterns of plasma melatonin with aging and mental conditions. Stability of nyctohemeral rhythm and differences in seasonal variation*. 1984. Acta Endocrinologica, 106, 145.
155. Tong M., Seth P., Penington D.G., (1987), *Proplatelets and stress platelets*, Blood 69, 522.
156. Turek F.W., and coll., Depts of Neurobiol. And Pysiol. And Neurology, Northwestem Univ, 2153 N. Campus Drive. Evanston. Il 60208 USA. From : Hanseatic Endocrine Conference "Melatonin after four decades", August 27-30. 1998. University of Hamburg, Medical School.
157. Valevsky.A., Modai I, Jerushalmy Z., Kikinzon L., Weizman A, *Effect of melatonin on active transport of serotonin into blood platelets*. Psychiatry Res 1995 Jul 28; 57 (2): 193-6.
158. Vanecek J., *Inibitory effect of melatonin on GnRh-induced LH release*. Rev Reprod 1999 May; 4 (2):76-72.
159. Vollrat L., *The Pineal Gland*, Springer Veri., Berlin, 1981, pag. 665.

160. Welker H.A., Semm P., Wilig R.P., Commenty J.C., Wilyschko W., Vollrath L., 1983, *Effects of artificial magnetic field on serotonin N-acetyltransferase and melatonin content of the rat pineal gland*. Exp. Brain Res., 50, 426.
161. Welsh M.G., 1985, *Pineal calcification: structural and functional aspects*. Pineal Research Reviews, 3, 41-68.
162. Wetterberg L., *Melatonin and clinical application*. Reprod Nutr 1999 May-Jun; 39 (3):367-82.
163. Wiechmann A.F., Burden M.A., *Regulation of AA-NAT and HIOMT gene expression by butyrate and cyclic AMP in Y79 human retinoblastoma cells*. J Pineal Res 1999 Sep; 27 (2): 116-21.
164. Wilson B.W., Lueng F., Buschbom R., Stevens R.G., Anderson L.E., Reite, R.J., 1988, "Electric field, the pineal gland and cancer" in *The Pineal Gland and cancer*, Gupta D., Attanasio A., Reiter. R.J.(eds.), Brain Research Promotions, Tubingen, pp.245.
165. Wilson. B.W., Stevens R.G., Anderson. L.E. (eds.), 1990, *Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields: The question of cancer*, Battelle Press, Columbus, pp.383.
166. Wurtman R.J. & F. Waldhauser, *Melatonin in Humans*, Center for Brain Sciences, Cambridge, MA, 1935, pag. 444.
167. Young I. M., Francis P.L., Leone A.M., et al., *Night-day urinary 6-hydroxymelatonin production as a function of age, bodymass and urinary creatinine levels: a population study in 110 subjects aged 3-80*. 1986, Journal of Endocrinology, Suppl. Abstract N°32,111.
168. Yu L., Scaad N.C., Klein D.C., 1993, *Calcium potentiates cyclic AMP stimulation of pineal arylalkylamine N-acetyl transferase*, Journal of Neurochemistry, 60, 1436-43.
169. Zamboni L., Pease P.C., (1961), *The vascular bed of the red bone marrow*, J. Ultrastruct. Res, 5, 65.
170. Zawilska J.B., Nowak J.Z., *Melatonin: from biochemistry to therapeutic applications*. Poi J Pharacol 1999 Jan-Feb; 51 (1):3-23.

Publicazioni e relazioni del professor Luigi Di Bella inerenti la Melatonina dal 1969 ad oggi:

1. *Aggregazione con ADP di piastrine pretrattate con Melatonina (MLT)*, Boll. SIBS, 1979, 55, Com. 54.
2. *Aspetti funzionali del fattore trombocitico regolatore del tasso piastrinamico*, Boll. SIBS, 1974, 50, Com. 251.
3. *Azione della melatonina (MLT) sulla piastrinogenesi in vitro*, (1979a), Gualano L., Rossi. M.T., Scalera. G. Boll. Soc. it. Biol. Sper., 55, 323.
4. *Azione della Melatonina (MLT) sulla piastrinogenesi in vitro*, Boll. SIBS, 1979, 55, 323-326.
5. *Azione mielotropica della Melatonina (MLT)*, Boll. SIBS, 1976, 52, Com. 26.
6. *Bone marrow platelet production after Melatonin i.v. infusion*, Third Colloquium of European Pineal Study Group, Pécs, 1984.
7. *Cardio-circulatory responses to Melatonin (MLT)*, Riunione congiunta SIBS-SIF-SINU, Sassari-Alghero, 1988.
8. *Dinamica megacariocitica e piastrinemia dopo Melatonina*, Boll. SIBS, 1971,47, Com. 224.
9. *Dinamica megacariocitica e piastrinemia dopo trattamento con Melatonina*, Arch. Fisiol., 1972, 69, 90-91.
10. *Dinamica midollare dopo trattamento sub acuto e cronico con Melatonina*, Arch. Fisiol., 1972, 69, 90-91.
11. *Dinamica midollare dopo trattamento subacuto e cronico con Melatonina*, Boll., SIBS, 1971, 47, Com. 125.

12. *Effect of Melatonin on circadian water intake by normal and tumro-bearing rats*, Riunione cong. SIBS-SIF-SINU, Ischia, 1994.
13. *Effetti della Melatonina (MLT) sopra il 2,3-DPG degli eritrociti circolanti di ratto*, Boll. SIBS, 1976, 52, Com. 24.
14. *Effetti della Melatonina (MLT) sui megacariociti viventi di midollo di ratto*, Boll. SIBS, 1977, 53, Com. 44.
15. *Effetti della Melatonina (MLT) sulle piastrine in vitro*, Boll. SIBS, 1979, 55, Com. 114.
16. *Effetti della perfusione melatoninica sulla differenza artero-venosa del compartimento cellulare del sangue circolante nei ratti splenectomizzati*, Boll. SIBS, 1972, 48, Com. 118.
17. *Effetti dell'azione simultanea della melatonina (MLT) e dell'ADP sui megacariociti in vitro*, (1979b), Gualano L., Rossi M.T., Scalera G., Boll. Soc. it. Biol. Sper., 55, 389-393.
18. *Influence of neuropeptide Y on bone marrow megacariocytes blood platelet count and blood glucose level*, XXXII Congress of The International union of Physiological Sciences. Glasgow 1993 Aug 1-6.
19. *L'aggregazione piastrinica in presenza di melatonina (MLT)*, Scalera G., Rossi M.T., Gualano L., Com. al Congresso Soc. It. Di Fisiologia, 25-26 maggio 1979.
20. *Melatonin and platelets/endotelium relationships*. Com. on the Satellite Symposium of the International Congress of Endocrinology. Sep. 6-9, 1992, Paris, France.
21. "Melatonin in Thrombocytopoiesis", Intern. Workshop, Tubingen, Sept.6-8, (1987), Rossi M.T. Published in *The pineal Gland an Cancer* Russel J. (Ed.), Reiter.
22. *Melatonin: an essential factor for the treatment and recovery from leukemia and cancer*, International Symposium on Melatonin, 1980, N. Birau & W. Schloot (Eds.), pag. 101-102.
23. *Molecular mechanism of bone marrow thrombocytopoiesis by melatonin*, Second Colloquium of European Pineal Study Group, Giessen, 1981.
24. *Nervous control of thrombocytopoiesis*, Proc. XXVI Intem., Congr. Physiol. Sci., New Dehli, 1974.
25. *Orientamenti fisiologici nella terapia delle emopatie*, Boll. Se., Med. 1974, 1-3.
26. "Perspective in pineal function", (1979c), Rossi M.T., Scalera G. in J. *The pineal gland of vertebrates including man*, Ariens Kappers & P. Pevet (Eds), (Prog. Brain Research., vol.52), Elsevier/North Holland Biochemical Press, Amsterdam, 475-78.
27. *Perspectives in Pineal functions*, First. Colloquium of European Pineal Study Group, Amsterdam, 1978.
28. *Photoperiod and rat's peripheral blood*, European Pineal Study Group, University of Surrey, 1990.
29. *Physiological basis for a rational therapy of bone marrow diseases*, XVth Intem. Congr. of Hematology, Kyoto, 1976, 9-45.
30. *Platelet turnover as influenced by melatonin*, International Symposium on Melatonin, 1980, N. Birau & W. Schloot (Eds.), pag. 173-174.
31. *Red blood cells generation and melatonin*, Internat. Symposium on Melatonin, 1980, N. Birau & W. Schloot (Eds.), pag. 175-176.
32. *Rilievi fisiologici ed effetti della (MLT) Melatonina sulle talassemie*, Boll. SIBS, 1976, 52, Com. 221.
33. *Rilievi fisiologici ed effetti della melatonina (MLT) sulle talassemie*, Rossi M.T., Scalera G., Tarozzi. G., Bollettino SIBS, 1976, 52. Com.221.
34. *Ruolo del sistema abenulo-epifisario nella regolazione del tasso piastrinamico*, Boll., SIBS, 1969, 45, Com. 171.
35. *Serotonin-Melatonin Biological Interrelations*, 1991, Minuscoli G.C., Com. International Symposium on Pineal Hormones. Bowral, NSW, Australia, July 21-24.

36. *Stabilization of platelet membrane by Melatonin*. Com. SIBS LXI Assemblea Generale-Società Italiana di Fisiologia, XLIV Congresso Nazionale Società Italiana di Nutrizione Umana, XXV Riunione Generale. Sept. 23-26, 1992, Roma.
37. *Studio di alcuni fattori del ricambio piastrinamico*, Boll., SIBS, 1973, 49, Com. 125.
38. *Sul ruolo fisiologico della Melatonina (MLT) nella regolazione del tasso piastrinamico*, Boll. SIBS, 1979, 55. Com. 68.
39. *Sulla pressione osmotica del midollo osseo*, Battistini N., Coronati R., Rossi M.T., Scalera G., 1975a, Boll. Soc. It. Biol. Sper., 51, 18bis, 25.
40. *Ulteriore contributo al meccanismo di produzione delle variazioni del 2,3-DPG intraeritrocitario dopo trattamento con Melatonina (MLT)*, Boll. SIBS, 1976, 52, Com. 21.
41. *Variazioni del 2,3-DPG eritrocitario dopo trattamento acuto con 5metossi-N-acetil-triptamma (Melatonina)*, Arch. Fisiol., 1976 (Riunione primaverile, Firenze).