



Università degli studi di Messina

Dipartimento di Patologia umana dell'Adulto e dell'Età evolutiva
"GAETANO BARRESI"

Dottorato di Ricerca XXIX Ciclo

Biotecnologie Mediche e Chirurgiche

Settore scientifico disciplinare: Med 40 (6/H1)

Coordinatore: *Prof. Giovanni Raimondo*

MYO-INOSITOLO: PROTOCOLLO NON FARMACOLOGICO PER LA PREVENZIONE DEL DIABETE GESTAZIONALE

Outcomes clinici e metabolici

Tesi di Dottorato di:
Dott. Angelo SANTAMARIA

Tutor:
Chiar.mo *Prof. Francesco CORRADO*

INDICE

1. INSULINO-RESISTENZA in gravidanza e DIABETE GESTAZIONALE	1
1.1 <u>Modificazioni del Sistema Endocrino</u>	1
1.2 <u>Modificazioni Metaboliche: Insulino-resistenza</u>	3
1.3 <u>Diabete Gestazionale e sue Complicanze</u>	13
2. II MYO-INOSITOLO	23
2.1 <u>Introduzione</u>	23
2.2 <u>Digestione e assorbimento</u>	25
2.3 <u>Biosintesi</u>	27
2.4 <u>Catabolismo</u>	28
2.5 <u>Myo-inositolo vs D-chiro-inositolo: differenze e distribuzione tissutale</u>	29
2.6 <u>Inositolo e Diabete Mellito</u>	32

3. MYO-INOSITOLO e DIABETE GESTAZIONALE	
nella PCOS	35
3.1 <u>PCOS e Insulino-resistenza</u>	35
3.2 <u>Myo-inositolo e prevenzione del DG nella PCOS: il</u>	
<u>paradosso ovarico</u>	37
4. MYO-INOSITOLO e DIABETE GESTAZIONALE	41
4.1 <u>Supplementazione di Myo-Inositolo in donne</u>	
<u>metabolicamente a rischio per Diabete Gestazionale</u>	41
4.2 <u>Evidenze e Conclusioni</u>	55
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	60

CAPITOLO 1

INSULINO-RESISTENZA in gravidanza e DIABETE GESTAZIONALE

La gestazione è caratterizzata da una *insulino-resistenza* fisiologica che aumenta durante tutto il corso della gravidanza e che pone le sue basi su radicali modificazioni endocrino-metaboliche dell'organismo della donna.

1.1 Modificazioni del Sistema Endocrino

Tra le maggiori modificazioni gravidiche dell'organismo della donna, fondamentale importanza rivestono quelle a carico del sistema endocrino. Sicuramente gran parte delle modificazioni sono influenzate da ormoni quali *estrogeni* e *progesterone* ma questi non sono gli unici ormoni ad entrare in gioco. L'ipofisi anteriore aumenta notevolmente di volume e di peso, con prevalenza delle cellule

cromofobe. Durante la gravidanza vi è un aumento dei livelli di *prolattina* plasmatica (conseguente all'azione degli *estrogeni*) mentre dopo il parto la concentrazione diminuisce, con variazioni di tipo pulsatile in relazione all'allattamento. L'*ormone della crescita* (GH), prodotto a livello ipofisario, si riduce dopo il primo trimestre per la produzione di un analogo ormone sintetizzato dalla placenta che, assieme all'*ormone lattogeno placentare* (HPL), svolge un'importante funzione nel regolare il metabolismo materno e l'afflusso di sostanze nutritive al feto. Avviene il resetting omeostatico, le soglie osmotiche per il rilascio della *vasopressina* neuroipofisaria e per la sete diminuiscono. Si assiste ad un aumento della ghiandola tiroide causato da una iperplasia del tessuto ghiandolare e dall'aumento della vascolarizzazione, con una conseguente modificazione della regolazione degli ormoni tiroidei. Durante la gravidanza la funzione surrenalica subisce delle variazioni molto marcate in relazione all'entrata in funzione dell'unità feto-placentare. Con l'avanzare della ricerca si scopre il sempre maggiore coinvolgimento di tessuti un tempo sottovalutati ma che oggi si scoprono essere di fondamentale importanza nell'omeostasi metabolica durante la gravidanza. Il tessuto

adiposo, ad esempio, è un organo fortemente attivo, sia dal punto di vista metabolico che endocrino. Gli adipociti producono diverse sostanze capaci di regolare il metabolismo dei carboidrati e dei lipidi, come la *leptina* e l'*adiponectina*. Queste sono soltanto alcune delle tante modificazioni che coinvolgono il sistema endocrino della donna durante la gravidanza. Tra gli obiettivi funzionali di tali fenomeni endocrini c'è sicuramente il raggiungimento di quell'*adattamento metabolico fisiologico* senza il quale l'organismo femminile non potrebbe adeguatamente sviluppare una gravidanza, né potrebbe assicurare un adeguato apporto nutritivo al feto.

1.2 Modificazioni Metaboliche: Insulino-resistenza

Sono diverse le modificazioni metaboliche che l'organismo della donna deve attuare per adattarsi alla situazione gravidica. Tra i metabolismi maggiormente influenzati vi è sicuramente il *metabolismo dei carboidrati*¹. L'adattamento fisiologico metabolico della donna in gravidanza è finalizzato a mantenere un rifornimento ininterrotto di sostanze nutritive al feto, nonostante la madre si

alimenti in modo intermittente, anche quando l'alimentazione materna sia saltuaria o inadeguata. Caratteristica dello stato metabolico gestazionale fisiologico è la tendenza all'iperglicemia postprandiale in presenza di iperinsulinemia, fatto che ha indotto a definire la gravidanza come *condizione predisponente al diabete mellito* nelle donne che presentano fattori di rischio. La donna in gravidanza ha un senso di fame perenne, soprattutto durante le prime 20 settimane di gestazione. Questo avviene perché l'aumento di *estrogeni* e *progesterone* determina una iperplasia e una iperattività delle β -cellule pancreatiche, aumentando la produzione di *insulina*. Possiamo suddividere la gravidanza dal punto di vista metabolico in due periodi:

- Un primo periodo (fino a circa la 20^a settimana) in cui, globalmente, prevale un *effetto anabolico*, dovuto all'aumentata produzione di ormoni steroidei (*estrogeni* e *progesterone*) e al conseguente iperinsulinismo, associato ad un aumento della sensibilità periferica all'insulina. Sostanzialmente si ha una elevata utilizzazione periferica del glucosio con un maggiore immagazzinamento dei lipidi, mentre risulta diminuita la

neoglucogenesi. Durante questo periodo l'organismo della donna mette in deposito sotto forma di grassi la quasi totalità degli introiti alimentari, facendo sì che a poche ore dal pasto la donna percepisca di nuovo il senso di fame. Durante le prime 20 settimane di gravidanza l'organismo della donna non fa altro che immagazzinare sotto forma di tessuto adiposo quelle riserve energetiche dalle quali andrà poi ad attingere nella seconda metà della gravidanza, quando le esigenze fetali aumentano.

- Un secondo periodo (dalla 20^a alla 40^a settimana) in cui, col procedere della gravidanza, aumentano i livelli dell'*ormone lattogeno placentare* (HPL) che, insieme agli altri ormoni controinsulari e ad altre sostanze metabolicamente attive, determina lipolisi e una forte azione diabetogena bloccando l'azione periferica dell'insulina, con conseguente *insulino-resistenza*. La placenta ha il compito di proteggere e difendere il prodotto del concepimento; la produzione di sostanze ed ormoni che antagonizzano l'insulina materna ritardandone l'azione, determina un rallentamento del sequestro materno di glucosio ma anche l'attività lipolitica dell'insulina

viene messa in discussione: c'è meno deposito e restano più trigliceridi in circolo. Si crea una condizione ematologica simile a quella diabetica, con iperglicemia e ipertrigliceridemia. Questo ritardo nell'assorbimento materno fa sì che il passaggio fetale di nutrienti sia più ricco, potendo il feto soddisfare le proprie esigenze.

Modificazioni Ormonali	Effetti	Cambiamento Metabolico
<i>Prima parte della gravidanza (fino a circa 20 settimane)</i>		
↑ Estrogeni e ↑ Progesterone provocano iperplasia delle β -cellule	↑ Immagazzinamento tissutale di glicogeno ↓ Produzione epatica di glucosio ↑ Utilizzazione periferica del glucosio ↓ Glucosio plasmatico a digiuno	Anabolico (dovuto agli ormoni sessuali) Iperinsulinemia
<i>Seconda parte della gravidanza (20-40 settimane)</i>		
↑ Lattogeno Placentare ↑ Prolattina ↑ Cortisolo ↓ Adiponectina	Diabetogeno ↓ Tolleranza glicemica <u>Insulino-resistenza</u> ↓ Immagazzinamento epatico di glicogeno ↑ Produzione epatica di glucosio	Anabolismo facilitato durante i pasti Accelerato consumo metabolico durante il digiuno per assicurare glucosio e aminoacidi al feto

In condizioni di digiuno i valori della glicemia materna sono più bassi di circa il 10% rispetto alla donna non gravida, mentre dopo i pasti sono più elevati. Sempre in condizioni di digiuno è accelerata la liberazione di proteine dal muscolo, con conseguente riduzione della massa muscolare e trasporto attivo di aminoacidi al feto: soprattutto *alanina* e *leucina*, cioè gli aminoacidi gluconeogenetici². Ancora, quando il digiuno viene prolungato oltre le 9-10 ore, rispetto alla condizione extr gravidica, si osserva una ulteriore riduzione della glicemia associata ad una accelerata lipolisi, con conseguente aumento nel circolo materno dei trigliceridi e degli acidi grassi, che rappresentano l'unica fonte di energia in carenza di carboidrati. In conseguenza di ciò si avrà un aumento della concentrazione plasmatica dei corpi chetonici materni, non essendo raro riscontrare modesti gradi di chetonuria soprattutto nelle urine emesse al mattino (*chetonuria gestazionale fisiologica*)³. Sempre nella gravida normale, la capacità del fegato di produrre glucosio in condizioni di digiuno aumenta progressivamente nel corso della gravidanza fino a raggiungere, nelle ultime settimane, livelli superiori del 15-30% rispetto alla condizione extr gravidica, permettendo un trasferimento

costante di glucosio al feto di circa 5-6 mg/Kg/min anche durante il digiuno materno. Durante i pasti prevale invece l'effetto anabolico esercitato dall'HPL che, riducendo l'azione dell'insulina a livello recettoriale (insulino-resistenza), ne stimola altresì una aumentata liberazione pancreatica. Il profilo glicemico circadiano nella gestante sana è caratterizzato da glicemia postprandiale aumentata e più prolungata rispetto alle condizioni extragravidiche (*anabolismo facilitato*). Inoltre, il picco iperglicemico postprandiale è alquanto ritardato rispetto ad una situazione non gravidica. Tutto questo trova la sua spiegazione fisiologica in quanto la tendenza ad una iperglicemia postprandiale, determinata da questo stato di insulino-resistenza, facilita il trasferimento di glucosio al feto: si instaura una sorta di "competizione" tra feto e madre, che permette al feto di guadagnare circa 3-4 ore alla fine di ogni pasto materno, durante le quali i nutrienti restano per un tempo maggiore in circolo, a disposizione del feto stesso. Successivamente la normale risposta iperinsulinemica (tardiva) della madre fa sì che, in un secondo momento, la glicemia si abbassi ulteriormente, realizzando uno stato di ipoglicemia a digiuno che è normale in gravidanza.

Complessivamente, il valore glicemico medio nell'arco delle 24 ore non si discosta da quello osservabile in condizioni extragravidiche, in quanto i periodi iperglicemici postprandiali sono compensati da quelli ipoglicemici a lunga distanza dai pasti. Si assiste ad un progressivo aumento delle concentrazioni plasmatiche di insulina a partire dalla 12^a-14^a settimana di età gestazionale, sia a digiuno che dopo i pasti⁴. Nelle ultime settimane di gravidanza l'insulinemia a digiuno e la concentrazione media di insulina nell'arco delle 24 ore possono raddoppiare rispetto alle condizioni extragravidiche, mentre la risposta secretoria di insulina dopo stimolo iperglicemico può addirittura triplicare. Tutto ciò fin qui esposto non fa che mettere in evidenza come la gravidanza sia una *condizione stressante* per il metabolismo glucidico, sostenuta da svariate modificazioni endocrino-metaboliche, sottese da un meccanismo principalmente basato su un aumento della *resistenza all'insulina*. In condizioni normali, a 34-36 settimane di età gestazionale, è dimostrabile un aumento della resistenza all'insulina pari a circa 50-60%, tuttavia un variabile grado di insulino-resistenza si riscontra già alla fine del primo trimestre di gravidanza. Il meccanismo di questo aumento della resistenza periferica all'insulina

non è ancora del tutto noto. Presumibilmente ad intervenire in maniera determinante è l'aumentata produzione materna e placentare di ormoni quali il *lattogeno placentare* (HPL), la *prolattina* ed il *cortisolo*. Tali ormoni, agendo sul versante post-recettoriale, favoriscono la diminuzione della sensibilità periferica e, quindi, l'insulino-resistenza. Più discusso è l'eventuale ruolo di *estrogeni* e *progesterone*, avendo questi ormoni azioni periferiche antagoniste dell'insulina di importanza secondaria in confronto agli altri ormoni sopra citati. Il *glucagone* è l'ormone pancreatico prodotto dalle α -cellule insulari. Induce glicogenolisi e gluconeogenesi a livello epatico e la sua secrezione è stimolata dall'ipoglicemia mentre è inibita dall'iperglicemia e dall'insulina. Nelle gravidanze normali ed a digiuno i livelli plasmatici di glucagone non sono modificati o sono occasionalmente superiori rispetto alle condizioni extragravidiche. Di contro, la soppressione della secrezione di glucagone da parte di uno stimolo iperglicemico è alquanto più intensa e prolungata a partire dalla seconda metà della gravidanza. Tutto questo suggerisce che il glucagone non intervenga di norma nella genesi dell'aumentata resistenza all'insulina nella gestante⁵. A causa di questo stato di

insulino-resistenza il fabbisogno insulinico aumenta progressivamente nella seconda metà della gravidanza e, di conseguenza, il mantenimento dell'equilibrio metabolico glicemico richiede un incremento della produzione di circa il 30% di insulina, con picchi particolarmente elevati dopo i pasti principali. Come già detto, la gravidanza esercita un effetto diabetogeno piuttosto intenso e ciò si può dedurre tenendo presente:

- La possibilità che il diabete si manifesti solo in gravidanza e in puerperio, quando l'organismo della donna non riesce a produrre una sufficiente quantità di insulina per mantenere l'euglicemia oppure non riesce ad attuare una risposta ipoglicemica adeguata nonostante una fisiologica secrezione di insulina (*Diabete Gestazionale*).
- L'aggravamento clinico e metabolico indotto dalla gravidanza su tutte le forme di diabete (*Diabete Pre-gestazionale*).
- La frequenza con cui in gravidanza può comparire uno stato di chetoacidosi non compensato.

- L'effetto predisponente all'insorgenza del diabete connesso alla multiparità.
- La presenza di insulino-resistenza.

Nella donna sana è possibile il compenso mediante iperproduzione di insulina. Nella donna con capacità di compenso ridotte la gravidanza svelerà la predisposizione al diabete. Nella donna già diabetica la malattia si manifesterà con maggiore evidenza e potrà anche presentare un aggravamento irreversibile. In ogni caso, lo stato gravidico tende ad aggravare le complicanze del diabete o a facilitarne l'insorgenza⁶. Infine c'è da considerare anche il ruolo di diverse sostanze metabolicamente attive, una fra tutte l'*adiponectina* che, prodotta dagli adipociti, è presente nel plasma materno a concentrazioni progressivamente ridotte con l'avanzare della gravidanza. I livelli plasmatici di questa proteina sono correlati con la sensibilità sistemica all'insulina. Fisiologicamente, l'*adiponectina* si può riscontrare in circolo, relativamente ad alte concentrazioni: 5-30 microgr/ml, 0.01% delle proteine plasmatiche totali⁷. Tali livelli sono ridotti nelle donne obese^{8,9} e con Diabete Mellito di tipo 2^{9,10},

risultando essere inversamente correlati ai valori di insulino-resistenza anche in soggetti non diabetici¹¹. È altresì ben noto come l'insulino-resistenza sia altamente correlata con la patologia ipertensiva¹² e, inoltre, come l'ipoadiponectinemia sia un fattore di rischio nel soggetto iperteso¹³. Alla luce di questi dati, risulta evidente come i livelli plasmatici di adiponectina possano essere considerati un marker indiretto di insulino-resistenza.

1.3 Diabete Gestazionale e sue Complicanze

Il Diabete Mellito Gestazionale è definito come *qualsiasi grado di intolleranza al glucosio con insorgenza o primo riscontro durante la gravidanza*. Il Diabete Gestazionale è un'alterazione metabolica frequente, ma la sua reale prevalenza è ancora fonte di dibattito: tra 2% e il 9%, con picchi di circa il 14% di tutte le gravidanze. Una maggiore prevalenza (14%) si trova negli Stati Uniti, nei gruppi etnici indiani americani, asiatici, ispanici e afro-americani, che sono a più alto rischio di diabete gestazionale rispetto ai caucasici¹⁴. L'aumento del diabete gestazionale in questi gruppi etnici è attribuito, in aggiunta

alle caratteristiche genetiche, al rapido cambiamento dello stile di vita, abitudini alimentari e una forte riduzione di attività fisica di queste popolazioni, una volta entrate in contatto con il mondo industrializzato. Dal punto di vista della patogenesi, il Diabete Gestazionale ha molte caratteristiche in comune con il Diabete Mellito di tipo 2 ed è caratterizzato da una produzione di insulina insufficiente a soddisfare il fabbisogno tissutale ed il mantenimento del normale metabolismo del glucosio in gravidanza. Nella gravidanza fisiologica l'omeostasi del glucosio viene mantenuta, nonostante lo sviluppo di un certo grado di resistenza all'insulina, attraverso un concomitante aumento compensatorio della secrezione insulinica. Nelle donne con DG, la possibile coesistenza di una resistenza "cronica" all'insulina prima della gravidanza e/o il mancato compenso delle β -cellule pancreatiche all'aumentato fabbisogno insulinico, indotto dalla secrezione degli ormoni placentari, quali il lattogeno placentare, il cortisolo, etc., comporta una risposta insulinica inadeguata, con conseguente iperglicemia. Evidenze scientifiche confermano come il diabete gestazionale sia associato ad un aumento significativo della morbilità e mortalità fetale e quindi la necessità di una diagnosi

quanto più precoce possibile¹⁴. Dopo un periodo in cui la curva glicemica per la diagnosi di Diabete Gestazionale veniva offerta solo alle donne con fattori di rischio, si passò allo screening da effettuare con 50gr di glucosio e 2 valutazioni glicemiche: una basale e l'altra dopo 1 ora dal mini-carico, *Glucose Challenge Test* (GCT). Tale test, che veniva offerto a tutte le gravide, selezionava quelle che successivamente avrebbero eseguito il test da carico con 100gr di glucosio, *Oral Glucose Tolerance Test* (OGTT). Recentemente, i risultati dello studio HAPO (*Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes*)¹⁴ ha indotto l'*International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group* (IADPSG)¹⁵ a proporre delle raccomandazioni che hanno rivoluzionato il modo di diagnosticare il diabete in gravidanza. Poiché i nuovi criteri aumenterebbero in modo sensibile i casi di Diabete Gestazionale, con conseguente aumento della spesa sanitaria, non tutti li hanno recepiti, lasciando la comunità internazionale ancora priva di una metodica condivisa, così come lo era stato in passato, per lo screening e la diagnosi del diabete in gravidanza. La contemporanea presenza di documenti di riferimento non concordanti ha generato in Italia comportamenti difformi fra i

diversi professionisti coinvolti, per cui l'Istituto superiore di sanità (ISS), per affrontare e risolvere questa disomogeneità assistenziale, ha convocato un gruppo di lavoro costituito dai rappresentanti delle società scientifiche coinvolte nel *management* del diabete gestazionale, da componenti del *panel* della linee guida sulla "Gravidanza fisiologica" e da membri dell'ISS, con il supporto metodologico e organizzativo del *Centro per la valutazione dell'efficacia dell'assistenza sanitaria*, CeVEAS, cui è stato affidato il mandato di raggiungere una posizione condivisa sulla base delle prove di efficacia disponibili e alla luce delle pratiche cliniche in uso in Italia. Le seguenti raccomandazioni esitate da questo gruppo di lavoro sono diventate parte integrante delle linee guida del Ministero della Salute¹⁶.

- Nel primo trimestre, al primo appuntamento in gravidanza, va offerta la determinazione della glicemia plasmatica per identificare le donne con diabete preesistente alla gravidanza. Sono definite affette da diabete preesistente alla gravidanza le donne con valori di glicemia a digiuno ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/l)

o di glicemia *random* ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l) o di HbA1c (standardizzata ed eseguita entro le 12 settimane) $\geq 6,5\%$. Indipendentemente dalla modalità utilizzata, è necessario che risultati superiori alla norma siano confermati in un secondo prelievo.

- Nelle donne con gravidanza fisiologica è raccomandato lo screening per il Diabete Gestazionale, eseguito utilizzando fattori di rischio definiti.

A 16-18 settimane di età gestazionale, alle donne con almeno una delle seguenti condizioni:

1. diabete gestazionale in una gravidanza precedente
2. indice di massa corporea (BMI) pre-gravidico ≥ 30
3. riscontro, precedentemente o all'inizio della gravidanza, di valori di glicemia plasmatica compresi fra 100 e 125 mg/dl (5,6-6,9 mmol/l)

deve essere offerta una curva da carico con 75gr di glucosio (OGTT 75gr) e un ulteriore OGTT 75gr a 28 settimane di età gestazionale, se la prima determinazione è risultata normale.

A 24-28 settimane di età gestazionale deve essere offerto un OGTT 75gr, alle donne con almeno una delle seguenti condizioni:

1. età ≥ 35 anni
2. BMI pre-gravidico ≥ 25 kg/m²
3. macrosomia fetale in una gravidanza precedente ($\geq 4,5$ kg)
4. Diabete Gestazionale in una gravidanza precedente (anche se con determinazione normale a 16-18 settimane)
5. anamnesi familiare di diabete (parente di primo grado con Diabete Mellito di tipo 2)
6. famiglia originaria di aree ad alta prevalenza di diabete: Asia meridionale (in particolare India, Pakistan, Bangladesh), Caraibi (per la popolazione di origine africana), Medio Oriente (in particolare Arabia Saudita, Emirati Arabi Uniti, Iraq, Giordania, Siria, Oman, Qatar, Kuwait, Libano, Egitto).

Sono definite affette da Diabete Gestazionale le donne con uno o più valori di glicemia plasmatica superiori alle soglie riportate nella tabella sottostante.

Criteria per la diagnosi di DG con OGTT 75 g		
<i>glicemia plasmatica</i>	<i>mg/dl</i>	<i>mmol/l</i>
diggiuno	≥ 92	$\geq 5,1$
dopo 1 ora	≥ 180	$\geq 10,0$
dopo 2 ore	≥ 153	$\geq 8,5$

- Per lo screening del Diabete Gestazionale non devono essere utilizzati la glicemia plasmatica a diggiuno, glicemie *random*, glicosuria, GCT e OGTT 100gr.
- I professionisti devono informare le donne in gravidanza che:
 1. nella maggioranza delle donne il Diabete Gestazionale viene controllato da modifiche della dieta e dall'attività fisica

2. se dieta e attività fisica non sono sufficienti per controllare il diabete gestazionale, è necessario assumere insulina; questa condizione si verifica in una percentuale compresa fra il 10% e il 20% delle donne
 3. se il Diabete Gestazionale non viene controllato, c'è il rischio di un'augmentata frequenza di complicazioni della gravidanza e del parto, come pre-eclampsia e distocia di spalla
 4. la diagnosi di Diabete Gestazionale è associata a un potenziale incremento negli interventi di monitoraggio e assistenziali in gravidanza e durante il parto
 5. le donne con Diabete Gestazionale hanno un rischio aumentato, difficile da quantificare, di sviluppare un Diabete Mellito di tipo 2, in particolare nei primi 5 anni dopo il parto.
- Alle donne cui è stato diagnosticato un diabete gestazionale deve essere offerto un OGTT 75gr non prima che siano trascorse 6 settimane dal parto.

A differenza del Diabete Pregestazionale, il Diabete Gestazionale non determina un aumento del rischio malformativo per il prodotto del concepimento. Infatti, i difetti malformativi sono associati al diabete quando la glicemia è elevata in fase preconcezionale; è importante sottolineare, quindi, che malformazioni accertate in una gestante affetta da Diabete Gestazionale possono essere dovute a casi di diabete preconcezionale diagnosticati per la prima volta in gravidanza e che, successivamente, vengono riclassificati¹⁷. Le complicanze del Diabete Gestazionale sono quasi tutte prevenibili con un buon controllo glicemico durante la gravidanza. Esse includono¹⁸:

- *Macrosomia Fetale*: (peso fetale maggiore di 4000-4500 grammi). Il feto riceve, attraverso il passaggio transplacentare, grandi quantità di nutrienti e particolarmente di glucosio, quest'ultimo induce un'iperproduzione di insulina fetale. L'insulina stimola la conversione del glucosio in glicogeno e lipidi, determinando un accumulo di tessuto adiposo con un peso fetale superiore alla media;
- *Parto Distocico*: come conseguenza delle aumentate dimensioni del feto, il parto può essere complicato dalla difficoltà del

disimpegno delle spalle. Questa costituisce una condizione di urgenza ostetrica estrema;

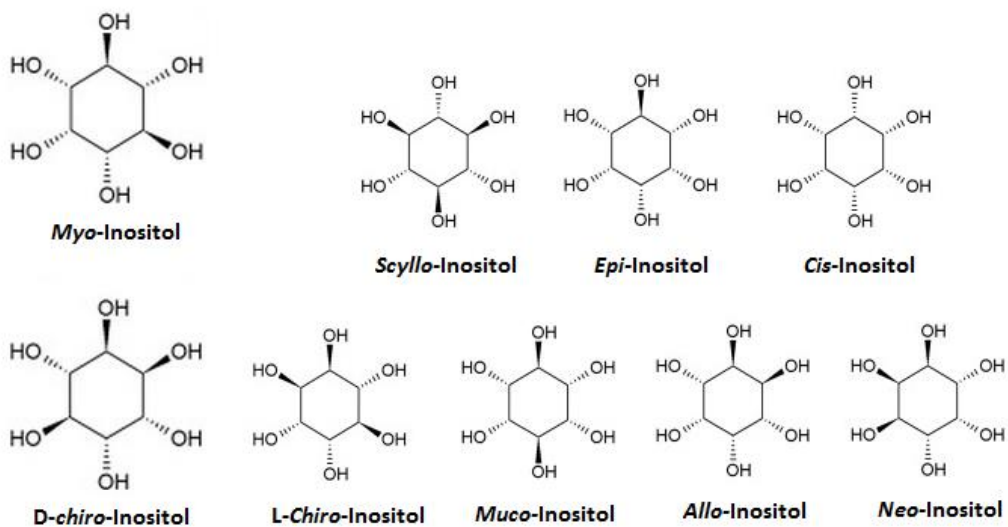
- *Ipoglicemia Neonatale*: complicanza secondaria all'iperinsulinismo fetale, che persiste anche dopo la nascita, determinando così un calo glicemico più o meno persistente. La glicemia neonatale deve essere ripetutamente controllata ed, in caso di ipoglicemia, questa deve essere prontamente corretta;
- *Sindrome da Distress Respiratorio* o malattia delle Membrane Ialine: l'iperglicemia e l'iperinsulinemia fetale, ritardano la maturazione polmonare. Difficoltà respiratorie sono molto comuni in nati prima delle 37 settimane di gestazione;
- *Mortalità Perinatale*: esiste una percentuale, seppur ridotta, di feti che in conseguenza del danno da dismetabolismo glicemico possono andare incontro a morte intrauterina fetale (MIF).

CAPITOLO 2

II MYO-INOSITOLO

2.1 Introduzione

L'*Inositolo* è un isomero dello zucchero alcolico C6 che appartiene alle vitamine del gruppo B; è di norma presente nei cereali, mais, legumi e carne e il principale organo in cui è sintetizzato è il fegato. Per tali motivi l'inositolo viene considerato come un integratore alimentare. Numerosi studi hanno suggerito come l'inositolo e i suoi isomeri, tra cui il *Myo-inositolo*, possano giocare un ruolo importante nella morfogenesi e citogenesi cellulare, nella sintesi dei lipidi, nella struttura delle membrane cellulari e nella crescita cellulare.



In particolare, è stato dimostrato che il Myo-inositolo è il precursore della sintesi dei fosfoinosidi. Costituisce cioè il sistema di trasduzione del segnale del fosfatidilinositolo conosciuto per essere coinvolto nella regolazione di diverse funzioni cellulari inclusa la proliferazione cellulare. L'importanza dell'attivazione del ciclo del fosfatidilinositolo nella trasduzione di diversi tipi di informazione attraverso la membrana plasmatica è diventata sempre più importante negli ultimi anni. È attivata in risposta a stimoli ormonali o di altri tipi e coinvolge un'idrolisi recettore-dipendente di un precursore lipidico dell'inositolo al fine di generare l'1,4,5-trifosfato inositolo. Questo è un *secondo messaggero* che regola diversi tipi di processi cellulari

modulando il rilascio intracellulare di Ca^{2+} in molteplici sistemi cellulari¹⁹. Sebbene molti di questi dati derivino da studi condotti su cellule somatiche, si sta formando un'evidenza clinica crescente che tali eventi cruciali siano correlati anche allo sviluppo dei gameti, inclusa la maturazione ovocitaria e spermatica, la fertilizzazione e il primo sviluppo embrionale. La presenza del Myo-inositolo nei nostri fluidi corporei, il suo ruolo quale precursore dei fosfolipidi di inositolo responsabili di importanti segnali intracellulari essenziali per lo sviluppo degli ovociti e il suo effetto nel migliorare la maturazione in vitro degli ovociti ha suggerito che possa esistere una relazione tra la concentrazione del Myo-inositolo nel fluido follicolare e la qualità degli ovociti che ne derivano²⁰.

2.2 Digestione e assorbimento

L'inositolo, presente nei prodotti alimentari di origine vegetale come fitato, viene idrolizzato nell'intestino degli animali monogastrici dall'enzima fitasi. Questo enzima, presente nel materiale vegetale della mucosa intestinale di numerosi animali, catalizza la rottura del

legame fosforico dando origine all'inositolo libero e ortofosfato e ai prodotti intermedi che includono gli esteri di inositolo mono-, di-, tri-, tetra e penta-fosfato²¹. Non è stato ancora stabilito quale sia la quantità di fitati che assunti con la dieta possano essere assorbiti direttamente, oppure se siano i polifosfati dell'inositolo, prodotti dall'attività dell'enzima fitasi e presenti a livello intestinale, ad entrare nel circolo plasmatico. L'assorbimento dell'inositolo libero a livello intestinale dipende da un trasporto attivo²². Sebbene molti tessuti animali ed alimenti siano arricchiti con fosfolipidi contenenti inositolo, le modalità di digestione e assorbimento del fosfatidilinositolo restano ancora da scoprire. Il fosfatidilinositolo assunto con la dieta può essere presumibilmente idrolizzato dalla fosfolipasi pancreatica nel lume intestinale a liso-fosfatidilinositolo, che verrà quindi riacilato oppure ulteriormente idrolizzato e assorbito dalla mucosa.

2.3 Biosintesi

L'inositolo viene attivamente sintetizzato all'interno dell'organismo umano. Infatti, la quantità di inositolo libero presente è di molto superiore a quella ingerita con l'alimentazione²³. Non sono stati ancora condotti studi in vivo sul contributo relativo dei vari organi alla quantità totale dell'inositolo endogeno sintetizzato nell'organismo, ma la potenziale importanza del rene e del fegato a questo riguardo è stata suggerita da un lavoro che ha analizzato la presenza di glucosio marcato nell'inositolo libero presente in questi organi²⁴. Una misurazione in vivo ha stimato in quasi 2 grammi al giorno la quantità di inositolo sintetizzato nel rene umano, quindi globalmente i due reni nell'uomo sintetizzano 4 grammi al giorno di inositolo, che è considerevolmente superiore a quello ingerito quotidianamente. Ulteriori studi hanno suggerito che anche i tessuti extrarenali contribuiscono alla produzione endogena di inositolo. Ad esempio anche alcune parti del cervello e del fegato possiedono una certa capacità di sintesi dell'inositolo. In particolare poi, si è scoperto che nel testicolo esiste un sistema di sintesi dell'inositolo molto attivo che parte dal glucosio e che è stato evidenziato utilizzando il glucosio

[C14]. È molto interessante osservare che si abbia una scarsa concentrazione di inositolo nei testicoli, dove esiste una grande capacità di sintesi, mentre negli organi con una insignificante capacità di sintesi si tende ad avere maggiori concentrazioni di inositolo. La biosintesi enzimatica di inositolo, come studiato approfonditamente nei testicoli del topo, coinvolge la conversione del glucosio 6-fosfato a inositolo 1-fosfato da parte dell'inositolo 1-fosfato sintetasi, seguita da reazione di defosforilazione catalizzata attraverso l'attività dell'inositolo 1-fosfatasi²⁴. La sintetasi e la fosfatasi sono state isolate e parzialmente purificate dalla ghiandola mammaria in esperimenti in vivo. Un incremento dell'attività di entrambi gli enzimi si è registrato nel percorso di biosintesi dell'inositolo nella ghiandola mammaria, in stretto accordo con il contenuto di inositolo nel latte materno.

2.4 Catabolismo

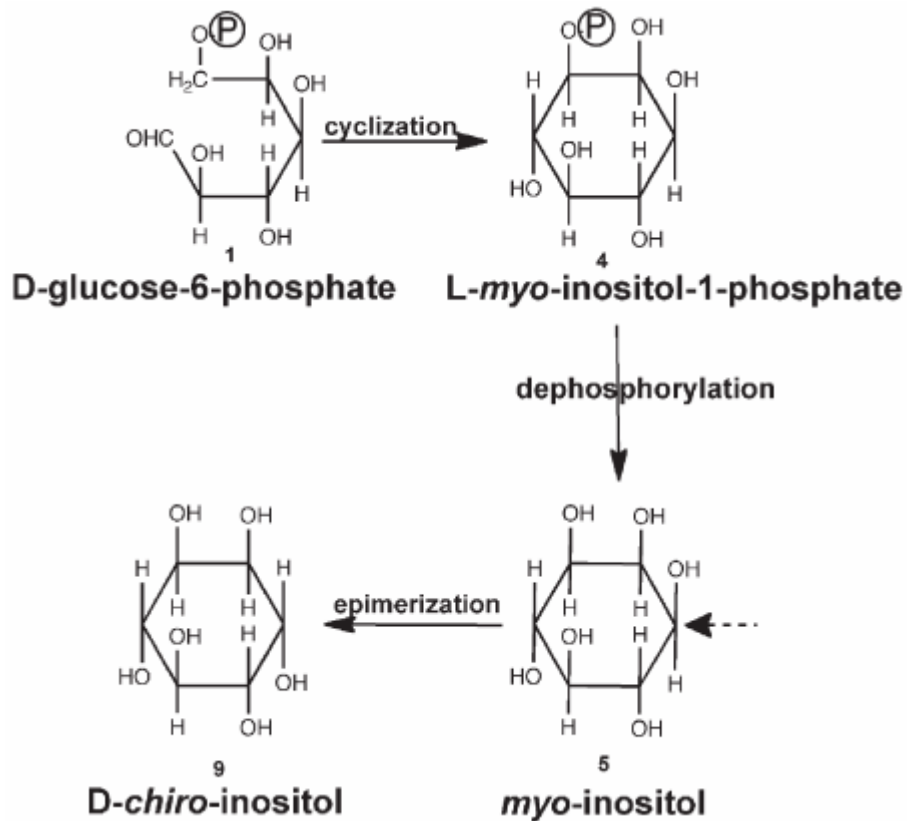
Inizialmente si pensava che il rene fosse l'unico organo preposto al catabolismo dell'inositolo ma anche che ci fosse un processo catabolico di trasformazione di inositolo a CO₂ respiratoria. In un

esperimento condotto su soggetti nefrectomizzati, nei quali si seguiva la degradazione dell'inositolo, si osservò che il catabolismo metabolico da parte del rene era quantitativamente più significativo della sua secrezione urinaria in condizioni fisiologiche. Altri studi hanno confermato che la quantità escreta con le urine è solo una minima parte della frazione di inositolo disponibile. L'inositolo disponibile viene convertito in D-glucosio e D-glucuronolattone, oppure completamente ossidato a CO₂ e acqua. È chiaro perciò che il rene sia verosimilmente il regolatore primario della concentrazione di inositolo plasmatico nell'uomo^{21; 23}.

2.5 Myo-inositolo vs D-chiro-inositolo: differenze e distribuzione tissutale

Il *Myo-inositolo* è l'isoforma dell'inositolo più abbondantemente rappresentata in natura, mentre il *D-chiro-inositolo* viene sintetizzato grazie ad un'epimerasi, che lo converte a partire dal Myo-inositolo²⁵. Questa reazione è dipendente dall'insulina e i tessuti insulino-

sensibili, quali il fegato e il muscolo, si sono mostrati essere siti di maggiore conversione.



Entrambi hanno in vivo un'azione insulino-simile e infatti il D-chiro-inositolo viene incorporato in un fosfolipide di membrana, l'inositolfosfoglicano, coinvolto nella trasduzione del segnale intracellulare dell'insulina. L'interazione dell'insulina con il suo recettore può attivare questa via di trasduzione alternativa, causando

l'idrolisi del fosfolipide e la formazione di messaggeri intracellulari coinvolti nel metabolismo ossidativo anziché non ossidativo del glucosio. Negli ultimi tempi, grazie alla comprensione dei dettagli molecolari e dell'importanza del sistema dei secondi messaggeri fosfolipidi-inositolo-calcio mediati, la quantità di processi cellulari noti per essere direttamente o indirettamente correlati agli inositoli sono stati enormemente ampliati. Una prima interpretazione semplicistica ipotizzava che il D-chiro-inositolo potesse essere la forma attivata (per mezzo dell'epimerasi) del Myo-inositolo; ad oggi questa visione è stata radicalmente confutata. Sia il Myo-inositolo che il D-chiro-inositolo agiscono come secondi messaggeri dell'insulina, attraverso meccanismi d'azione distinti: se da una parte il Myo-inositolo è coinvolto nell'uptake cellulare del glucosio, dall'altra il D-chiro-inositolo induce la sintesi di glicogeno²⁵. Ne consegue che, seppur il Myo-inositolo sia l'isomero maggiormente presente nell'organismo, tessuti ed organi che per definizione rappresentano il "deposito" energetico dell'organismo (Muscoli, Fegato, Tessuto adiposo) contengano fisiologicamente una maggiore concentrazione di

D-chiro-inositolo rispetto ad altri organi e tessuti con un alto metabolismo energetico basale (Cuore, Cervello)²⁶.

2.6 Inositolo e Diabete Mellito

Recentemente si è scoperto un grande interesse sulla relazione tra l'inositolo e alcune malattie metaboliche, come ad esempio il Diabete Mellito. I diabetici soffrono spesso di una ridotta velocità di conduzione nervosa periferica, sensoriale e motoria, con o senza evidenza di plurineuropatie. Si è scoperta una relazione fra l'inositolo e la scompensata funzionalità del sistema nervoso periferico negli individui con diabete acuto. Negli individui affetti da Diabete Mellito si registra una difficoltà a mantenere concentrazioni normali di inositolo libero nel tessuto nervoso periferico, che è in stretta relazione con una diminuita velocità di conduzione nervosa, nonostante il fatto che i livelli plasmatici di inositolo libero siano simili a quelli degli individui sani. Un'integrazione alimentare con l'1% di inositolo fa aumentare i livelli plasmatici e nervosi di inositolo libero e migliora in modo significativo la velocità di conduzione

nervosa negli individui diabetici. È inoltre noto che un trattamento con insulina previene la diminuzione dei livelli di inositolo presente nel sistema nervoso e la velocità di conduzione nervosa scompensata negli individui diabetici. Questi dati hanno suggerito come il Diabete Mellito possa provocare una diminuzione del trasporto trans membrana cellulare dell'inositolo. L'attività dell'inositolo-ossigenasi renale, che catabolizza l'inositolo, è marcatamente diminuita nei soggetti diabetici e può essere l'espressione dell'elevata concentrazione di inositolo nel rene diabetico e quindi l'aumentata clearance dell'inositolo²⁷. È stato osservato che l'inositoluria, presente in caso di Diabete Mellito nell'uomo, può aumentare principalmente per l'effetto inibitorio del glucosio sul riassorbimento tubulare renale dell'inositolo. Perciò la quantità dell'inositolo escreta con le urine, può influire significativamente sulla quantità di inositolo assunto con l'alimentazione nel diabetico non trattato. L'escrezione urinaria diminuisce avvicinandosi ai livelli normali di glicemia plasmatica, sotto trattamento insulinico. L'inositolfosfoglicano è uno dei mediatori intracellulari del segnale insulinico¹⁹ ed è correlato con l'insulino-sensibilità nel Diabete Mellito di Tipo 2^{28; 29}. L'aumentata

escrezione urinaria dell'inositolfosfoglicano è stata direttamente correlata con i livelli ematici di glucosio nel Diabete Gestazionale³⁰. Allo stesso modo, un'aumentata escrezione urinaria è stata riscontrata³¹ nella Sindrome della Policistosi Ovarica (PCOS), che è una condizione clinica caratterizzata da insulino-resistenza e in cui ha avuto successo il trattamento con Myo-inositolo e Acido Folico³². Questi effetti sembrano correlati ad un difetto nella disponibilità o utilizzazione tissutale dell'inositolfosfoglicano nella PCOS, che può contribuire all'insulino-resistenza nella sindrome, per cui la somministrazione di inositolfosfoglicano potrebbe migliorare l'azione intracellulare dell'insulina³³. Queste osservazioni suggeriscono la possibilità che l'insulino-resistenza nel Diabete Gestazionale, come nella PCOS, possa essere migliorata dalla somministrazione di inositolo.

CAPITOLO 3

MYO-INOSITOLE e DIABETE GESTAZIONALE nella PCOS

3.1 PCOS e Insulino-resistenza

La sindrome dell'ovaio policistico (PCOS) è un disordine metabolico caratterizzato da ovaie policistiche alla valutazione ecografica, oligomenorrea, iperandrogenismo e infertilità; interessando approssimativamente il 5-17% delle donne caucasiche in età fertile³⁴. L'anovulazione cronica è una delle ragioni dell'infertilità di queste donne. La patogenesi della PCOS è sconosciuta, sebbene l'insulino resistenza e la conseguente iperinsulinemia, che affligge almeno il 70% di queste donne, sembrerebbe esserne una delle cause più importanti³⁵. Alla luce di ciò che è stato illustrato nel precedente capitolo, è facile dedurre come le donne affette da PCOS siano a maggior rischio di sviluppare un diabete gestazionale, iniziando la gravidanza metabolicamente svantaggiate a causa della

iperinsulinemia preconcezionale. In particolare, le donne con PCOS risultano essere ad alto rischio di sviluppare patologie metaboliche durante la gravidanza rispetto alla popolazione normale di simile età riproduttiva: è stato infatti riportato che almeno il 30% di donne affette da PCOS sviluppa un diabete gestazionale³⁶. Suddetta condizione metabolica è aggravata anche dall'obesità di queste donne che, sovente, presentano un BMI elevato già in età adolescenziale. L'elevata prevalenza di diabete gestazionale nelle donne PCOS che iniziano una gravidanza pone il problema di una adeguata prevenzione da effettuarsi quanto più precocemente possibile. Il farmaco che ha brillantemente risolto tanti casi di infertilità nelle donne PCOS affette da insulino-resistenza con iperinsulinemia è la metformina, che recentemente è stata somministrata anche durante la gravidanza, con evidenti intenti di prevenzione nei confronti del Diabete Gestazionale, pur con risultati controversi^{37; 38; 39}. Un'altra sostanza che si è posta all'attenzione degli operatori è l'inositolo, considerato un *integratore*, con effetti insulino-simili.

3.2 Myo-inositolo e prevenzione del DG nella PCOS: il paradosso ovarico

Poiché l'iperinsulinismo è la principale alterazione metabolica nelle pazienti affette da PCOS, recentemente ha suscitato notevole interesse l'azione dell'inositolo sui recettori dell'insulina e le sue conseguenti implicazioni metaboliche. L'inositolo è stato descritto come un secondo messaggero che può esercitare un effetto insulino-simile sugli enzimi metabolici¹⁹. E' presente come fosfatidilinositolo nella membrana cellulare, che è costituito da D-chiro-inositolo e galattosamina, ed è stato dimostrato come esso svolga un ruolo importante nell'attivazione di enzimi che controllano il metabolismo del glucosio. E' stato anche riportato che l'insulino-resistenza è correlata ad una riduzione dell'escrezione urinaria di D-chiro-inositolo nei primati, in pazienti con intolleranza glucidica o diabete mellito di tipo II e anche in parenti di I grado euglicemici di pazienti con Diabete Mellito²⁷. Inoltre la concentrazione di D-chiro-inositolo nel muscolo è significativamente ridotta nei pazienti con diabete di tipo II rispetto ai pazienti sani²⁷. Nel 2008, Nestler e coll. in 22 donne affette da PCOS somministrarono 1200mg/die di D-chiro-inositolo,

migliorando l'attivazione dell'insulina e la funzione ovulatoria, e riducendo nello stesso tempo i valori pressori, i livelli di androgeni serici e dei trigliceridi³³. Purtroppo, però, questi risultati non furono confermati negli studi successivi³⁸. Come discusso nei capitoli precedenti, ormai è noto il coinvolgimento del Myo- e del D-chiro- inositolo nella trasduzione del segnale insulinico: nell'uptake del glucosio il primo, nella glicogenosintesi il secondo. Il Myo-inositolo è coinvolto altresì nella trasduzione del segnale dell'ormone Follicolo stimolante (FSH)⁴⁰. Il tessuto ovarico presenta, in condizioni fisiologiche, una concentrazione di inositolo in massima percentuale rappresentata da Myo-inositolo; solo l'1% è sotto forma di D-chiro- inositolo²⁶. In condizioni di insulino-resistenza, come nella PCOS, l'ovaio, a differenza degli altri organi e tessuti, non mostra una ridotta risposta all'incremento plasmatico di insulina, come se "paradossalmente" non fosse un organo insulino-resistente. L'epimerasi mantiene la sua azione e, iperattivata dall'insulina, converte massivamente il Myo-inositolo in D-chiro-inositolo sovvertendone le concentrazioni ovariche. Ne consegue che nella PCOS, il deficit di Myo-inositolo è co-responsabile anche

dell'insufficienza ovarica determinata dalla scarsa risposta allo stimolo dell'FSH⁴¹. Dati in letteratura dimostrano come l'inositolo migliori l'insulino-sensibilità e la funzione ovulatoria in giovani donne con PCOS, con entrambe le sue isoforme: D-chiro-inositolo³³ e Myo-inositolo^{32; 42}. Inoltre, l'inositolo si è dimostrato utile nel migliorare l'iperandrogenismo in donne con PCOS e anche l'outcome ostetrico in donne infertili con scarsa qualità ovocitaria⁴³. Uno studio retrospettivo condotto dal nostro gruppo di ricerca, mette in relazione PCOS e incidenza di DG in pazienti trattate con inositolo. Lo studio è stato condotto presso il nostro Dipartimento di Ginecologia ed Ostetricia dell'Università di Messina⁴⁴, eseguito su donne affette da PCOS, che hanno ottenuto la gravidanza assumendo metformina o Myo-inositolo. Poiché la metformina è stata assunta fino al test di gravidanza positivo, questo gruppo di 37 gravide è stato considerato gruppo di controllo, mentre il gruppo Myo-inositolo, costituito da 46 gravide, ha assunto l'integratore fino al termine di gravidanza. I 2 gruppi erano comparabili per età, BMI, parità, insulinemia e glicemia a digiuno pre-gravidica. L'outcome principale è stato la prevalenza del Diabete Gestazionale nei 2 gruppi, evidenziando una differenza

significativa ($p=0.001$), essendo del 54% nel gruppo placebo e del 17% nel gruppo Myo-inositolo. Nessuna differenza è stata riscontrata, invece, negli outcome secondari, relativi a prevalenza di taglio cesareo, ipertensione gestazionale, macrosomia, parto pre-termine; ma tale risultato potrebbe essere stato determinato dall'esiguità del campione studiato. Sono dati che necessitano di una conferma in studi prospettici più ampi, ma che suggeriscono come la supplementazione di Myo-inositolo (4gr al giorno) possa ridurre il rischio di Diabete Gestazionale in donne con PCOS, essendo inoltre ben tollerata, anche in gravidanza, senza eventi avversi né per il feto né per la madre.

CAPITOLO 4

MYO-INOSITOLO e DIABETE GESTAZIONALE

4.1 Supplementazione di Myo-inositolo in donne metabolicamente a rischio per Diabete Gestazionale

Evidenze scientifiche mostrano come il Diabete Gestazionale sia associato ad un aumento del rischio fetale, inclusa la macrosomia e danni alla nascita per distocia di spalla. Anche per il neonato la morbilità risulta aumentata, essendo aumentato il rischio di ipoglicemia neonatale, sindrome da distress respiratorio (NRDS) e obesità infantile. I rischi materni includono il taglio cesareo, disordini ipertensivi e un aumentato rischio di sviluppare il Diabete Mellito di Tipo 2 successivamente nella vita. Lo studio osservazionale multicentrico HAPO, ha valutato la relazione tra iperglicemia materna e outcomes avversi in gravidanza¹⁴, evidenziando una reale e continua relazione tra l'iperglicemia materna e il peso eccessivo fetale rispetto l'epoca gestazionale raggiunta, l'iperinsulinemia fetale, l'ipoglicemia

neonatale e l'incidenza di taglio cesareo. A seguito di ciò, l'International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group (IADPSG) ha pubblicato delle raccomandazioni per la diagnosi e la classificazione dell'iperglicemia durante la gravidanza¹⁵. In accordo con un recente report⁴, questi nuovi criteri possono far aumentare le diagnosi di Diabete Gestazionale, particolarmente nelle donne a rischio. Tra le strategie attuate per ridurre l'incidenza di Diabete Gestazionale in gravide ad alto rischio le sostanze insulino-sensibilizzanti, come la metformina, sono state utilizzate in gravidanza con risultati contrastanti^{37; 39}. È stato già illustrato nei precedenti capitoli come l'inositolo sia stato utilizzato inizialmente nella PCOS, con lo scopo di ridurre l'insulinemia e ristabilire la funzione ovarica; somministrato sia come isomero D-chiro-Inositolo³³, che come isomero Myo-inositolo⁴². Il nostro gruppo di ricerca ha anche evidenziato come il Myo-inositolo possa ridurre i markers di insulino-resistenza (HOMA-IR e Adiponectina) in donne affette da Diabete Gestazionale⁴⁵.

Per il calcolo dell' HOMA-IR si è utilizzata la formula pubblicata da Matthews⁴⁶:

$$HOMA-IR = [Insulina (\mu U/ml) \times Glicemia (mmol/l)] / 22.5$$

Successivamente, il nostro principale obiettivo, è stato ridurre l'insorgenza di Diabete Gestazionale attraverso la somministrazione di Myo-inositolo sin dal primo trimestre di gravidanza in tre gruppi di donne a rischio metabolico: pazienti aventi un familiare di primo grado (genitore) affetto da Diabete Mellito di tipo 2⁴⁷, donne obese (BMI \geq 30)⁴⁸ e sovrappeso (25 < BMI < 30)⁴⁹. Il nostro protocollo di studio aperto, placebo-controllo, prospettico e randomizzato, è stato condotto con pazienti gravide seguite presso il nostro dipartimento di Ginecologia ed Ostetricia dell'Università di Messina e presso il dipartimento Materno-Infantile dell'Università di Modena e Reggio Emilia. L'arruolamento è iniziato i primi mesi del 2010 ed è terminato nel 2014. Sono state reclutate pazienti caucasiche, con criteri di inclusione ed esclusione peculiari per ogni studio in corso.

Criteri di Inclusione	Criteri di Esclusione
<ul style="list-style-type: none"> • Madre/Padre con Diabete Mellito di tipo 2 * 	<ul style="list-style-type: none"> • Genitori non affetti da Diabete Mellito di tipo 2*
<ul style="list-style-type: none"> • BMI pre-gravidico $\geq 30^*$ 	<ul style="list-style-type: none"> • BMI pre-gravidico $< 30^*$
<ul style="list-style-type: none"> • BMI pre-gravidico > 25 e $< 30^*$ 	<ul style="list-style-type: none"> • Glicemia basale ≥ 126 mg/dl
<ul style="list-style-type: none"> • Glicemia basale < 126 mg/dl 	<ul style="list-style-type: none"> • Glicemia random ≥ 200 mg/dl
<ul style="list-style-type: none"> • Glicemia random < 200 mg/dl 	<ul style="list-style-type: none"> • Gravidanza gemellare
<ul style="list-style-type: none"> • Gravidanza singola 	<ul style="list-style-type: none"> • Razza non caucasica
<ul style="list-style-type: none"> • Razza caucasica 	<ul style="list-style-type: none"> • Pregresso Diabete Gestazionale
	<ul style="list-style-type: none"> • Diabete pre-gestazionale
	<ul style="list-style-type: none"> • Glicosuria del primo trimestre
	<ul style="list-style-type: none"> • Terapia con corticosteroidi
	<ul style="list-style-type: none"> • PCOS

* criteri peculiari dei diversi trials di studio eseguiti^{47; 48; 49}

Il principale outcome è stato l'incidenza di Diabete Gestazionale; outcomes secondari: profilo glicemico materno, prevalenza di macrosomia fetale (peso fetale > 4000 gr alla nascita), ricorso al taglio cesareo, ipertensione gestazionale, parto pre-termine, ritardo di crescita intra-uterino (IUGR). La diagnosi di Diabete Gestazionale è

stata effettuata in accordo con le raccomandazioni IADPSG¹⁵. Nel nostro centro per lo screening del Diabete Gestazionale, negli ultimi anni, la prevalenza di Diabete Gestazionale è stata del 10,9%. Al termine del reclutamento, i gruppi di studio sono stati trattati con 4 gr di Myo-inositolo + 400 µg di Acido Folico al giorno; i controlli hanno assunto solo 400 µg di Acido Folico al giorno.

Analisi Statistica

L'analisi statistica è stata effettuata solo tra le gravide che hanno concluso i 3 studi: 291 nel gruppo trattato con MI e 304 nel gruppo placebo (Tabella 1). I dati sono stati espressi come media e deviazione standard (SD) e le variabili categoriali come percentuale. L'approccio non parametrico è stato utilizzato poiché le variabili numeriche non erano normalmente distribuite, come verificato dal test di Kolmogorov Smirnov. Al fine di confrontare i casi ed i controlli, è stato applicato il test di Mann Whitney con riferimento ai parametri numerici: età materna, indice di massa corporea, HOMA, età gestazionale al momento dell'OGTT, glicemia basale, glicemia ad 1 ora, glicemia a 2 ore, incremento ponderale materno all'OGTT, età gestazionale al momento del parto, peso alla nascita. Il test del Chi Quadrato è stato

applicato al fine di confrontare i gruppi sopra citati con riferimento alle variabili categoriali: parità, macrosomia (≥ 4000 g), parto pre-termine (prima di 259 giorni dall'ultimo ciclo mestruale), restrizione della crescita intrauterina fetale (IUGR) (peso alla nascita inferiore al 10° percentile), ipertensione gestazionale (GH) (pressione arteriosa $\geq 140/90$ dopo 20 settimane di gestazione), GDM. Mediante il medesimo test, abbiamo effettuato il confronto tra donne diabetiche e non diabetiche. Il test di Spearman è stato applicato al fine di valutare l'esistenza di una correlazione significativa tra i parametri numerici. Il modello di regressione logistica multivariata è stato applicato sull'intero campione, al fine di individuare quali outcomes (GDM, GH, IUGR, parto pre-termine, macrosomia, taglio cesareo in emergenza e OGTT) siano stati influenzati dal trattamento con Myo-inositolo. I risultati dell'analisi univariata sono riportati come valori di *p*, *odds ratio* e intervallo di confidenza al 95% (*CI*). L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando IBM SPSS Statistics per Windows, versione 22 (Armonk, NY, IBM Corp.). Un valore di *p* inferiore a 0,05 è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati

Nessuna differenza significativa è stata riscontrata tra i 2 gruppi all'inizio degli studi in relazione all'età materna, al BMI pre-gravidico, alla nulliparità, all'HOMA al I trimestre e alla familiarità per diabete tipo 2 (Tabella 2). In relazione agli outcomes rilevati all'OGTT (Tabella 3), si evidenzia una differenza altamente significativa ($p < 0.001$) nelle diagnosi di GDM tra i 2 gruppi (25.3% vs 11.0%), con una riduzione significativa del rischio nel gruppo Myo-inositolo (OR 0.36, CI 0.23 – 0.57). Vi è una differenza altamente significativa ($p < 0.001$) tra i 2 gruppi, in relazione ad ogni valore glicemico. Nessuna differenza, invece, in relazione all'aumento medio di peso e dell'epoca gestazionale all'OGTT. Per quanto riguarda gli outcomes clinici (Tabella 4), nessuna differenza tra i 2 gruppi in relazione all'epoca gestazionale al parto e al peso fetale, evidenziando come il trattamento con Myo-inositolo non sembri influenzare il peso medio alla nascita (solo 57 g di differenza media). Vi è una differenza significativa, tra i 2 gruppi, nell'incidenza di parto pre-termine ($p=0.03$) e di macrosomia fetale ($p=0.04$) e una differenza borderline per l'incidenza delle sindromi ipertensive gravidiche

($p=0.07$). Nessuna differenza, invece, in relazione al taglio cesareo di emergenza (solo un trend: 10.3% vs 14.1%) e nell'incidenza di IUGR. Nella Tabella 5 è riportato il confronto di variabili tra i 2 gruppi di pazienti diabetiche: Myo-inositolo vs Placebo. Tra le variabili al I trimestre si evidenzia una differenza statisticamente significativa in relazione al valore di HOMA-IR ($p=0.01$), mentre all'OGTT si registra una differenza statisticamente significativa ($p=0.02$) tra i 2 gruppi in relazione all'incremento di peso e al valore glicemico dopo un'ora dal carico di glucosio ($p=0.004$), che è mediamente più elevato nel gruppo Myo-inositolo rispetto al placebo (182 mg/dl vs 165 mg/dl). Al parto riscontriamo altre differenze significative tra i 2 gruppi in relazione all'epoca gestazionale ($p=0.002$) e soprattutto al peso fetale, che è inferiore nel gruppo trattato con Myo-inositolo ($p=0.01$). Nessuna differenza tra i 2 gruppi di pazienti diabetiche in merito agli outcomes clinici, dipendendo principalmente dall'esiguità dei casi. Eseguendo le regressioni logistiche univariate e multivariate appare chiaro come il trattamento con Myo-inositolo influenzi gli outcomes comuni considerati nei 3 studi, non solo metabolici, ma anche clinici (Tabella 6). Nel gruppo Myo-inositolo si riduce in modo

statisticamente significativo il rischio di sviluppare il diabete gestazionale ($p < 0.001$; OR 0.36), correlando in particolar modo su 2 valori di glicemia al momento dell'OGTT: a digiuno ($p = 0.001$; OR 0.37) e dopo 120' ($p = 0.01$; OR 0.44). Simile effetto protettivo nel gruppo Myo-inositolo si verifica anche per gli outcomes clinici: parto pre-termine ($p = 0.03$; OR 0.44) e macrosomia ($p = 0.04$; OR 0.38,) ma anche per ipertensione gestazionale seppur con valori borderline di significatività statistica ($p = 0.06$; OR 0.34).

Tabella 1

Risk Factors	Myo-inositol	Placebo	Total
Parent with type 2 diabetes (n)	99	98	197
Obesity (n)	97	104	201
Overweight (n)	95	102	197
Total	291	304	595

Tabella 2

Characteristics	Myo-inositol (n. 291)	Placebo (n. 304)	p
Maternal age (y)	31.3 ± 5.4	32.0 ± 5.4	0.09
BMI (Kg/m ²)	27.9 ± 5.4	28.3 ± 5.1	0.27
Nulliparous (%)	50.2	48.7	0.72
HOMA	2.2 ± 2.0	2.2 ± 2.1	0.51
A parent with type2 DM (n. & %)	99 (34.0%)	98 (32.2%)	0.64

y= years DM= diabetes mellitus

Tabella 3

	Myo-inositol (n. 291)	Placebo (n. 304)	p
Gestational age at OGTT (d)	181.7 ± 9.6	182.0 ± 10.9	0.70
Weight increase at OGTT (kg)	6.4 ± 3.6	6.4 ± 4.1	0.80
T 0 glucose OGTT (mg/dl)	79.3 ± 7.9	82.7 ± 9.3	< 0.001
T 60' glucose OGTT (mg/dl)	126.6 ± 31.6	136.4 ± 31.6	< 0.001
T 120' glucose OGTT (mg/dl)	105.8 ± 24.6	115.4 ± 28.5	< 0.001
GDM diagnosis (n. & %)	32 (11.0%)	77 (25.3%)	< 0.001

d=days Kg= kilograms h=hour GDM= gestazional diabetes mellitus

Tabella 4

Clinical Outcomes	Myo-inositol (n. 291)	Placebo (n. 304)	p
Gestational age at delivery (d)	272.2 ± 11.6	272.4 ± 12.2	0.38
Birth weight (g)	3188 ± 468	3245 ± 523	0.14
CS in emergency (n. & %)	30 (10.3%)	43 (14.1%)	0.15
Pre-term delivery (n. & %)	10 (3.4%)	23 (7.6%)	0.03
Macrosomia (>4000g) (n. & %)	6 (2.1%)	16 (5.3%)	0.04
Gestational hypertension (n. & %)	4 (1.4%)	12 (3.9%)	0.07
IUGR (n. & %)	4 (1.4%)	3 (1.0%)	0.7

d=days g=grams CS= cesarean section

Tabella 5

	Myo-inositol	Placebo	p
	(n. 32)	(n. 79)	
Maternal age (y)	32.6 ± 5.5	32.5 ± 5.1	0.63
BMI (Kg/ m ²)	28.6 ± 4.5	30.2 ± 5.1	0.32
HOMA-IR (I trimester)	2.97 ± 1.7	2.30 ± 2.2	0.01
Gestational age at OGTT (d)	180.5 ± 6.9	181.1 ± 13.7	0.59
T 0' glucose OGTT (mg/dl)	89.9 ± 7.2	92.5 ± 9.6	0.30
T 60' glucose OGTT (mg/dl)	181.8 ± 33.4	165.6 ± 29.4	0.004
T 120' glucose OGTT (mg/dl)	140.8 ± 29.3	141.5 ± 29.4	0.95
Weight increase at OGTT (kg)	7.2 ± 4.1	5.5 ± 4.3	0.02
Gestational age at delivery (d)	265.8 ± 9.8	270.9 ± 13.7	0.002
Birth weight (g)	3003 ± 627	3281 ± 592	0.01
Familiarity (n. & %)	99 (34.0%)	98 (32.2%)	0.64

y= years d=days g=grams

Tabella 6

*Univariate logistic regression
analysis on myo-inositol
treatment*

	P	OR	CI
Gestational Diabetes Mellitus	<0.001	0.36	0.23 – 0.57
Gestational Hypertension	0.06	0.34	0.11 – 1.06
Pre-term Delivery	0.03	0.44	0.20 – 0.93
Macrosomia	0.04	0.38	0.14 – 0.98
IUGR	0.66	1.39	0.31 – 6.30
T 0 glucose OGTT	0.001	0.37	0.20 – 0.66
T 60' glucose OGTT	0.26	0.72	0.41 – 1.27
T 120' glucose OGTT	0.01	0.44	0.23 – 0.86
CS in emergency	0.15	0.69	0.42 – 1.14

4.2 Evidenze e Conclusioni

Con questo studio, il nostro gruppo di ricerca ha effettuato un'accurata indagine prospettica con successiva valutazione statistica relativamente a 3 trials randomizzati e controllati con il placebo^{47; 48; 49}, in cui il Myo-inositolo (4g/die) + acido folico (400 mcg/die) è stato somministrato a pazienti gravide con vari fattori di rischio per il diabete gestazionale (familiarità, obesità, sovrappeso) vs placebo (ac. folico 400 mcg/die). In ciascuno di essi si era verificata una riduzione delle diagnosi di diabete gestazionale di circa 2/3 ma non era stato possibile accertare se questa importante riduzione nella diagnosi della patologia si accompagnasse ad una riduzione altrettanto significativa delle complicanze del diabete stesso: macrosomia, parto pre-termine e sindromi ipertensive. Nonostante alcune significatività erano state apprezzate, trattandosi di eventi patologici che hanno una incidenza modesta, soltanto mettendo insieme un numero maggiore di gravide arruolate si poteva raggiungere una qualche significatività statistica. La valutazione delle complicanze del diabete gestazionale è quindi la principale misura di outcomes che questo studio si prefiggeva. Così unendo la casistica dei 3 studi, si sono potuti ottenere dati di outcomes

clinico-metabolici su circa 600 donne arruolate, evidenziando come nel gruppo trattato con Myo-inositolo la prevalenza di parto pre-terminale e macrosomia fetale fosse significativamente inferiore rispetto al gruppo placebo, con una significatività, seppur border-line, anche per le sindromi ipertensive gravidiche. Tale dato è confermato dalla regressione logistica per la quale tra la somministrazione di Myo-inositolo e la riduzione degli outcomes clinici esiste un rapporto di causa/effetto che comporta un rischio nel gruppo placebo circa triplo per le sindromi ipertensive gravidiche e più che doppio per l'incidenza di macrosomia ed parto pre-terminale, in cui peraltro la significatività risulta essere più marcata. I dati metabolici all'OGTT sono anch'essi molto interessanti perché ci spiegano, in qualche modo, anche il meccanismo d'azione del Myo-inositolo. Per quanto i valori di glicemia siano significativamente diversi nei 2 gruppi per ciascun valore glicemico della curva da carico, la regressione logistica ci svela alcuni particolari interessanti: l'effetto massimo del Myo-inositolo si ottiene nel valore di glicemia a digiuno; resta significativo a T 120' ma non è più significativo a T 60'. Questo dato concorda con quello relativo alle sole pazienti diabetiche, in cui il valore glicemico nel

gruppo trattato con Myo-inositolo a T 60' è significativamente maggiore del placebo. Queste evidenze potrebbero apparire in contrasto con l'effetto protettivo del Myo-inositolo: le pazienti diabetiche in trattamento presentano valori glicemici maggiori rispetto al gruppo placebo. Analizzando l'assetto metabolico di queste donne, si nota come l'insulino-resistenza, calcolata come HOMA, sia mediamente di 2.30 nel placebo e di 2.97 nel gruppo trattato: le pazienti con diagnosi di diabete gestazionale nel gruppo trattato sono metabolicamente più svantaggiate rispetto al gruppo placebo, come se si fosse superato un limite metabolico oltre il quale gli effetti protettivi del Myo-inositolo non evitano l'insorgenza del diabete gestazionale. Questa ipotesi giustificherebbe anche le differenze significative nel peso materno all'OGTT e alla glicemia a 60'. In sintesi: il Myo-inositolo fallisce nel prevenire il diabete gestazionale in condizioni metaboliche significativamente più gravi, come lo è una maggiore insulino-resistenza. Tuttavia, lo sviluppo del diabete gestazionale non esclude del tutto i potenziali effetti metabolici del Myo-inositolo in queste pazienti: la significativa diminuzione di peso neonatale alla nascita potrebbe essere la conseguenza del ridotto trasferimento di

glucosio al feto. Non vi sono ad oggi altri ampi studi sul Myo- inositolo e prevenzione del diabete gestazionale, tuttavia il Myo- inositolo non è l'unica sostanza insulino-sensibilizzante utilizzata in gravidanza. Sono diversi gli studi relativi a pazienti gravide in trattamento con metformina fin da prima della gravidanza, in quanto affette da sindrome dell'ovaio policistico, con lo scopo di ridurre le diagnosi di diabete gestazionale e le sue complicanze. I risultati sono stati controversi^{50; 51; 52} ed in una meta-analisi pubblicata l'anno scorso, in cui sono state prese in considerazione circa 1000 donne, di cui circa 500 trattate e circa 500 placebo, nessuna differenza è stata riscontrata nell'incidenza di diabete gestazionale o sindromi ipertensive, mentre una riduzione di circa il 60% riguardava l'incidenza di aborto e parto pre-termine⁵³. In conclusione, i nostri dati mostrano un generale effetto protettivo del Myo-inositolo nei confronti dell'insorgenza del diabete gestazionale, con un Odds Ratio ridotta del 64% nel gruppo di donne trattate e con simili riduzioni del rischio per quanto riguarda le complicanze materno-fetali del diabete gestazionale. I tre trials sono stati effettuati coinvolgendo donne in gravidanza, metabolicamente a rischio per diabete gestazionale.

Tuttavia, il 25% di diagnosi di diabete gestazionale nel gruppo placebo ha un peso significativo che, inevitabilmente, si ripercuote sulla salute pubblica (implicazioni materne e fetali) e sul Sistema Sanitario Nazionale (implicazioni economiche). La netta differenza con le diagnosi di diabete gestazionale effettuate nel gruppo di pazienti trattate, solo l'11%, è un risultato molto importante se consideriamo che il Myo-inositolo non è attualmente considerato un farmaco, bensì un integratore alimentare caratterizzato da una buona compliance e solo rari e lievi effetti collaterali.

BIBLIOGRAFIA

1. Pinget M., Gandar R., Jacques C. et al.: Les modifications de la tolérance glucosée maternelle au cours de la grossesse. *Revue Franç. Gynéc. Obstet.*, 77, 35, 1982.
2. Cetin I., Pardi G.: Fetal metabolism of amino-acid. *J. Perin. Med.*, 22 (suppl.), 1, 1994.
3. Chauhan S. P., Perry K. G.: Management of diabetic ketoacidosis in the obstetric patient. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, 22, 143, 1995.
4. Carpenter M. W. et al.: Fetal hyperinsulinism at 14-20 weeks and subsequent gestational diabetes. *Obstet. Gynecol.*, 87, 89, 1996.
5. Rossi G., Cavalleri E., Centinaio G., Iurlaro E., Vignali M.: Effetto della gravidanza sulla risposta ormonale all'ipoglicemia. *Atti Soc. It. Gin. Ost.*, 70° Congresso, Roma, 1994.

6. Gasparri F., Branconi F.: Ruolo del diabete sulle modificazioni endocrine e metaboliche della gravidanza. *Atti Soc. It. Gin. Ost.*, 62, Bologna, 1983.
7. Scherer P. E., Williams S., Fogliano M., Baldini G., Lodish H. F.: A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 121, 52–62.
8. Arita Y., Kihara S., Ouchi N., Takahashi M., Maeda K., Miyagawa J., et al.: Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999; 257: 79–83.
9. Weyer C., Funahashi T., Tanaka S., Hotta K., Matsuzawa Y., Pratley R. E., et al.: Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 1930–5.
10. Hotta K., Funahashi T., Arita Y., Takahashi M., Matsuda M., Okamoto Y., et al.: Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 1595–9.

11. Matsubara M., Katayose S., Maruoka S.: Decreased plasma adiponectin concentrations in nondiabetic women with elevated homeostasis model assessment ratios. *Eur. J. Endocrinol.* 2003; 148: 343–50.
12. Ferrannini E., Buzzigoli G., Bonadonna R., Giorico M. A., Oleggini M., Graziadei L., et al.: Insulin resistance in essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1987; 317: 350–7.
13. Iwashima Y., Katsuya T., Ishikawa K., Ouchi N., Ohishi M., Sugimoto K., et al.: Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension. *Hypertension* 2004; 43: 1318–23.
14. HAPO Study Cooperative Research Group, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, Coustan DR, Hadden DR, McCance DR, Hod M, McIntyre HD, Oats JJ, Persson B, Rogers MS, Sacks DA. Hyperglycaemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study Cooperative Research Group. Hyperglycaemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2008;358:1991–2002.

15. Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycaemia in pregnancy. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel. *Diabetes Care* 2010;33:676–82.
16. Linee Guida Gravidanza Fisiologica, p. 169-173. Aggiornamento 2011; ISS e Ministero della Salute.
17. Reece A, Coustan D. Il diabete mellito in gravidanza. Guidotti, 1998.
18. Riviello C, Parretti E, Mello G. Gravidanza a rischio e terapia dietetica. In: Scienze dietetiche. CIC Edizioni Internazionali, 2007.
19. Saltiel AR. Second messengers of insulin action. *Diabetes Care* 1990;13:244–256.
20. Nordio M, Papaleo E, Unfer V. Myo-Inositolo e Melatonina: Il ruolo dei secondi messaggeri e qualità dei gameti. Verduci Editore.

21. Loewus FA. Inositol metabolism: precursor role and breackdown. *Plant Sci* 2000; 150: 1 – 19.
22. Deranieh RM, Greenberg ML. Cellular consequences of inositol depletion. *Biochem Soc Trans.* 2009 Oct;37 (Pt 5):1099-103. doi: 10.1042/BST0371099. Review.
23. Loewus FA. Inositol biosynthesis, metabolism: precursor role and breackdown. *Inositol metabolism in plants.* Wiley-Liss, New York, 1190, pp. 13-19.
24. Larner J, Huang LC, Schwartz CFW, Oswald AS, Shen T-Y, Kinter M, Tang G, Zeller K. Rat liver insulin mediator which stimulates pyruvate dehydrogenase phosphatase contains galatosamine and D-chiroinositol. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 151: 1416-1426.
25. Romero G, Luttrell L, Rogol A, Zeller K, Hewlett E, Larner J. Phosphatidylinositol-glycan anchors of membrane proteins: potential precursors of insulin mediators. *Science.* 1988 Apr 22;240(4851):509-11.

26. Sun TH, Heimark DB, Nguygen T, Nadler JL, Larner J. Both myo-inositol to chiro-inositol epimerase activities and chiro-inositol to myo-inositol ratios are decreased in tissues of GK type 2 diabetic rats compared to Wistar controls. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 May 10;293(3):1092-8.
27. Baillargeon JP, Chiu TYT, Papaleo E, Unfer V. *Il Myo-inositolo nella pratica clinica ostetrica-ginecologica.* Verduci Editore.
28. Kennington AS, Hill CR, Craig J, Bogardus C, Raz I, Ortmeyer HK et al. Low urinary chiro-inositol excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1990; 323: 373–378.
29. Suzuki S, Kawasaki H, Satoh Y. Urinary chiro-inositol excretion is an index marker of insulin sensitivity in Japanese type II diabetes. *Diabetes Care* 1994; 17: 1465–1468.
30. Scioscia M, Kunjara S, Gumaa K, McLean P, Rodeck CH, Rademacher TW. Urinary excretion of inositol phosphoglycan p-type in gestational diabetes mellitus. *Diabet Med* 2007; 24: 1300–1304.

31. Baillargeon JP, Diamanti-Kandarakis E, Ostlund RE Jr, Apridonidze T, Iuorno MJ, Nestler JE. Altered D-chiro-inositol urinary clearance in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 2006; 29: 300–305.
32. Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP, De Santis L, Fusi F, Brigante C et al. Myoinositol in patients with polycystic ovary syndrome: a novel method for ovulation induction. *Gynecol Endocrinol* 2007; 23: 700–703.
33. Nestler JE, Jakubowicz DJ, Reamer P, Gunn RD, Allan G. Ovulatory and metabolic effects of D-chiro-inositol in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1999; 340: 1314–1320.
34. Asunción M, Calvo RM, San Millán JL, Sancho J, Avila S, Escobar-Morreale HF. A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2434–2438.
35. Baillargeon JP, Nestler JE. Commentary: polycystic ovary syndrome: a syndrome of ovarian hypersensitivity to insulin? *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:22–24.

36. Glueck CJ, Wang P, Kobayashi S, Phillips H, Sieve-Smith L. Metformin therapy throughout pregnancy reduces the development of gestational diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77:520–525.
37. Glueck CJ, Pranikoff J, Aregawi D, Wang P. Prevention of gestational diabetes by metformin plus diet in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2008; 89:625-34.
38. Katthab S, Mohsen IA, Aboul Foutouh I, Ashmawi HS, Mohsen MN, van Wely M, van der Veen F, Youssef MA. Can metformin reduce the incidence of gestational diabetes mellitus in pregnant women with polycystic ovary syndrome? Prospective cohort study. *Gynecol Endocrinol* 2011; 27:789-93.
39. Vanky E, Stridsklev S, Heinstad R, Romunstad P, Skogoi K, Kleggetveit O, Hjelle S, von Brandis P, Eikeland T, Flo K, Berg KF, Bunford G, Lund A, Bjerke C, Almas I, Berg AK, Danielson A, Lahmami G, Carlsen SM. Metformin versus placebo from first trimester to delivery in polycystic ovary syndrome: a randomized, controlled multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:E448-55.

40. Kutateladze TG. Translation of the phosphoinositide code by PI effectors. *Nat Chem Biol.* 2010 Jul;6(7):507-13. doi: 10.1038/nchembio.390. Review
41. Carlomagno G, Unfer V, Roseff S. The D-chiro-inositol paradox in the ovary. *Fertil Steril.* 2011 Jun 30;95(8):2515-6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.05.027.
42. Genazzani AD, Lanzoni C, Ricchieri F, Jasonni VM. Myo-inositol administration positively affects hyperinsulinemia and hormonal parameters in overweight patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2008;24:139–144.
43. Unfer V, Raffone E, Rizzo P, Buffo S. Effect of a supplementation with myo-inositol plus melatonin on oocyte quality in women who failed to conceive in previous in vitro fertilization cycles for poor oocyte quality: a prospective, longitudinal, cohort study. *Gynecol Endocrinol* 2011;27:857–861.

44. D'Anna R, Benedetto V, Rizzo P, Raffone E, Interdonato ML, Corrado F, Di Benedetto A. Myo-inositol may prevent gestational diabetes in PCOS women. *Gynecol Endocr.* 2012; 28:440-42.
45. Corrado F, D'Anna R, Di Vieste G, Giordano D, Pintaudi B, Santamaria A, Di Benedetto A. The effect of myoinositol supplementation on insulin resistance in patients with gestational diabetes. *Diabet Med* 2011; 28:972-75.
46. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Treacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412–419.
47. D'Anna R, Scilipoti A, Giordano D, Caruso C, Cannata ML, Interdonato ML, Corrado F, Di Benedetto A. Myo-Inositol supplementation and onset of gestational diabetes mellitus in pregnant women with a family history of type 2 diabetes: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *Diabetes Care.* 2013 Apr;36(4):854-7.

48. D'Anna R, Di Benedetto A, Scilipoti A, Santamaria A, Interdonato ML, Petrella E, Neri I, Pintaudi B, Corrado F, Facchinetti F. Myo-inositol Supplementation for Prevention of Gestational Diabetes in Obese Pregnant Women: A Randomized Controlled Trial. *Obstet Gynecol.* 2015 Aug;126(2):310-5.
49. Santamaria A, Di Benedetto A, Petrella E, Pintaudi B, Corrado F, D'Anna R, Neri I, Facchinetti F. Myo-inositol may prevent gestational diabetes onset in overweight women: a randomized, controlled trial. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016 Oct;29(19):3234-7.
50. De Leo V, Musacchio MC, Piomboni P, Di Sabatino A, Morgante G. The administration of metformin during pregnancy reduces polycystic ovary syndrome related gestational complications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011 Jul;157(1):63-6.

51. Khattab S, Mohsen IA, Aboul Foutouh I, Ashmawi HS, Mohsen MN, van Wely M, van der Veen F, Youssef MA. Can metformin reduce the incidence of gestational diabetes mellitus in pregnant women with polycystic ovary syndrome? Prospective cohort study. *Gynecol Endocrinol.* 2011 Oct;27(10):789-93.
52. Vanky E, Stridsklev S, Heimstad R, Romundstad P, Skogøy K, Kleggetveit O, Hjelle S, von Brandis P, Eikeland T, Flo K, Berg KF, Bunford G, Lund A, Bjerke C, Almås I, Berg AH, Danielson A, Lahmami G, Carlsen SM. Metformin versus placebo from first trimester to delivery in polycystic ovary syndrome: a randomized, controlled multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Dec;95(12):E448-55.
53. Feng L, Lin XF, Wan ZH, Hu D, Du YK. Efficacy of metformin on pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis. *Gynecol Endocrinol.* 2015;31(11):833-9.